

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

VACCINATION PAR VOIE CUTANÉE.

CHARBON :

CUTI-INFECTION, CUTI-VACCINATION, CUTI-IMMUNITÉ

par A. BESREDKA.

Le procédé classique de vaccination anticharbonneuse, qui réussit si bien chez les grands animaux, échoue presque toujours chez les petits animaux de laboratoire. Dès qu'on dépasse la dose minima mortelle (1/8 de cent. cube du deuxième vaccin chez le cobaye ou une fraction minime de cent. cube de virus chez le lapin), il est exceptionnel que ces animaux résistent, quel que soit le soin que l'on apporte à les rendre réfractaires. Qu'on soumette le cobaye à une préparation pendant de longs mois, que cette préparation soit aussi graduelle que possible, qu'elle soit pratiquée par les voies sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse, le résultat est invariablement le même, il est nul.

A la suite de nos recherches sur l'immunité locale de l'intestin (1) et des poumons (2), nous nous demandâmes si une

(1) Ces *Annales*, 33, mai 1919, p. 301; *Ibid.*, août 1919, p. 557; *Ibid.*, décembre 1919, p. 882.

(2) Ces *Annales*, 34, janvier 1920, p. 51; *Ibid.*, juin 1920, p. 362.

immunité de même ordre n'existerait pas pour d'autres organes, pour la peau notamment.

Le meilleur réactif pour cette étude nous a paru être la bactérie charbonneuse.

Dès le début de ces recherches, notre attention fut attirée par la façon dont l'appareil cutané réagissait à l'égard des vaccins charbonneux, surtout après une irritation de la peau. Ainsi, lorsqu'on badigeonne la peau fraîchement rasée du cobaye avec un tampon trempé dans une culture du *premier* vaccin, on voit apparaître, dès le lendemain, une réaction inflammatoire caractéristique. Celle-ci ne manifeste aucune tendance à envahir les régions voisines, non badigeonnées; elle persiste quatre à six jours, puis subit une régression graduelle: la peau pâlit, devient souple, et ne laisse subsister aucune trace apparente de l'inoculation.

La réaction est toute autre avec le *deuxième* vaccin. L'application de ce dernier sur la peau rasée d'un cobaye neuf est suivie aussi d'une réaction inflammatoire, mais celle-ci est plus vive que dans le cas précédent. Au lieu de rester limitée au niveau de l'inoculation, le processus gagne les tissus voisins, s'étend de plus en plus et devient rapidement généralisé. Le cobaye périt en l'espace de quatre jours, en moyenne.

Tels sont les caractères de l'infection cutanée au moyen du premier ou du second vaccin anticharbonneux.

*
* *

Reprenons le premier de nos cobayes qui, badigeonné avec le premier vaccin, a survécu, et adjoignons-lui un cobaye neuf. Rasons tous les deux en un point déterminé de la cuisse et appliquons-leur sur la peau, encore toute piquetée de rouge, un tampon imbibé du deuxième vaccin.

Dès le lendemain, chez l'un comme chez l'autre, nous ne manquerons pas de constater une réaction locale, plus ou moins accusée. Chez le cobaye témoin, l'infection ne tardera pas à se généraliser et se terminera par une septicémie mortelle; chez le cobaye antérieurement frictionné avec le premier vaccin, l'infection demeurera circonscrite; en quelques jours, la peau reprendra son aspect normal.

Laissons s'écouler une dizaine de jours. Reprenons une fois de plus notre cobaye et soumettons-le à une nouvelle épreuve, plus sévère que la précédente : appliquons-lui sur la peau fraîchement rasée un tampon imbibé de virus charbonneux en bouillon.

Une réaction très vive s'ensuivra : la région frottée deviendra rouge, indurée ; il y aura même de l'œdème ; mais tout s'arrêtera là. Malgré la dose de virus, qui serait énorme pour tout animal non préparé, notre cobaye s'en tirera à bon compte et il aura la vie sauve.

Voici, à titre d'illustration, l'histoire de quelques animaux « cuti-vaccinés » :

Cobaye A, 530 grammes. — 2 avril, premier vaccin en friction.

8 avril, deuxième vaccin en friction (le témoin meurt le 12 avril).

23 avril, deuxième vaccin (1/4 cent. cube) sous la peau (le témoin reçoit 1/8 cent. cube et meurt le 27).

5 mai, virus pur en friction.

11 mai, virus pur (1/10 cent. cube) sous la peau. Survit.

Cobaye B, 580 grammes. — 21 avril, premier vaccin en friction.

5 mai, deuxième vaccin en friction.

18 mai, virus pur en friction.

26 mai, virus (1/10 de cent. cube de culture en bouillon) sous la peau.

2 juin, virus (1 cent. cube) sous la peau.

15 juin, virus (3 cent. cubes) sous la peau.

29 juin, virus (5 cent. cubes) sous la peau.

2 juillet, virus (1 cent. cube de culture sur gélose) sous la peau. Survit.

Par la même voie, cutanée, le lapin se vaccine contre le charbon avec la même facilité, sinon plus facilement, que le cobaye.

Lapin, 2.050 grammes. — 23 avril, deuxième vaccin en friction.

30 avril, virus pur en friction.

11 mai, virus (1/10 cent. cube de culture en bouillon) sous la peau (le témoin meurt le 17).

19 mai, virus (5 cent. cubes de culture en bouillon) sous la peau.

6 juin, virus (4 cent. cubes de culture en bouillon) dans la trachée. Survit.

Chez le lapin, on peut commencer, à la rigueur, par du virus pur, qui est loin d'être toujours fatal en friction ; seulement, il se forme en cas de survie, au niveau de la zone frictionnée, une croûte qui est très longue à se détacher. Le mieux est donc, lorsqu'on n'est pas pressé, de commencer par le deuxième vaccin, puis de passer, dès que la réaction locale est terminée, au badigeonnage avec du virus pur.

L'expérience montre que, à partir du moment où la peau a récupéré son aspect normal, l'animal est solidement vacciné : on peut lui inoculer du virus en n'importe quel point de l'organisme — dans la peau, sous la peau, dans la trachée — à n'importe quelle dose : il ne court plus aucun risque.

*
* *

L'immunité anticharbonneuse, aussi solide que celle que nous venons d'indiquer, peut être réalisée par la voie intracutanée proprement dite : au lieu d'appliquer les vaccins sur la peau rasée, on arrive tout aussi bien à vacciner le cobaye en injectant le premier vaccin, puis le deuxième, directement dans l'épaisseur de la peau. Ce procédé a l'avantage de permettre un dosage précis des produits à injecter.

Nous rapportons ci-dessous deux exemples qui donnent l'idée des réactions locales et de la marche de la vaccination en pareils cas.

Cobaye C, 510 grammes. — 28 octobre, 1 cent. cube de premier vaccin dans la peau; 29, la peau est rouge, œdématiée; 30, la rougeur et l'œdème s'accroissent; 1^{er} novembre, la peau est rouge violacé; 2, escarre; 3, croûte noire sur fond rouge œdématié; 4, plaque noire de dimensions d'une pièce de 10 centimes; 5, de dimensions d'une pièce de 25 centimes; 6, croûte noire épaisse reposant sur un fond rose; 8, le fond est pâle; 9, la croûte est encore adhérente; 10, la croûte commence à se libérer par un de ses bords; 12, à la place de la croûte qui s'est détachée on voit une ulcération profonde qui saigne. Les jours suivants, la cicatrisation se parachève; 6 décembre, la peau est normale.

8 décembre, 1/10 de cent. cube de deuxième vaccin dans la peau; 9, la peau est œdématiée et excoriée par places; 10, croûte noire mince, légèrement adhérente; 13, la croûte, en se détachant, laisse voir une grosse ulcération plane en voie de cicatrisation; 14, et les jours suivants, la cicatrisation se poursuit; 21, la peau offre un aspect normal.

24 décembre, 1/10 de cent. cube de virus charbonneux dans la peau; 25, la peau est rouge; 27, idem; 29, la peau est redevenue normale.

4 janvier, 1 cent. cube de virus charbonneux sous la peau; 6, gros œdème rouge; 10, rien d'anormal. L'animal survit.

Nous voyons que chez le cobaye qui reçoit, en première injection, d'emblée une dose massive (1 c. c.) de premier vaccin dans la peau, la réaction locale est intense et durable. Il ne s'ensuit pas moins une immunité très solide.

Afin d'éviter cette forte réaction de début, nous recomman-

dons d'injecter, la première fois, une dose faible ($1/10$ de cent. cube) de vaccin. En procédant ainsi, on crée l'immunité en un temps relativement court. En voici un exemple :

Cobaye D, 490 grammes. — 4 novembre, $1/10$ de cent. cube de premier vaccin dans la peau ; 5, petites érosions cutanées ; 6, croûte, léger œdème ; 9, idem ; 10, petite escarre noire ; 12, croûte noire sur fond normal ; 13, et les jours suivants, la croûte se détache ; 23, la peau est normale.

27 novembre, $1/10$ de cent. cube de premier vaccin dans la peau (donc, même dose que la première fois) ; 4 décembre, croûte ; 6, la peau est normale.

8 décembre, $1/10$ de cent. cube de deuxième vaccin dans la peau ; 9, la peau est légèrement indurée ; 13, la peau est redevenue normale.

17 décembre, $1/10$ de cent. cube de virus en bouillon dans la peau ; 18, pas de réaction.

24 décembre, $1/2$ cent. cube de virus dans la peau ; 27, rien d'anormal.

4 janvier, 1 cent. cube de virus sous la peau ; 6, œdème ; 10, l'œdème a disparu.

11 février, 1 cent. cube de virus dans la peau ; 18, le cobaye ne présente rien d'anormal ; il est saigné à blanc (voir plus bas).

En résumé, que l'on adopte la voie cutanée proprement dite, c'est-à-dire la friction de la peau rasée, ou que l'on s'adresse à la voie intracutanée, on est sûr de conférer au cobaye une immunité telle qu'il devient réfractaire au charbon inoculé en n'importe quel point de l'organisme.

*
* *

Quel est le mécanisme de cette immunité charbonneuse qui a ceci de particulier qu'elle ne peut être réalisée que par la voie cutanée ?

La première idée qui se présente à l'esprit est que le sang des cobayes immunisés renferme des anticorps, lesquels — pour une raison qui nous échappe — ne seraient fabriqués qu'à la suite des injections cutanées.

Sans nous attarder à la recherche de sensibilisatrices et d'agglutinines dans le sang, nous nous sommes empressé de mettre en évidence des propriétés préventives. Un de nos cobayes cuti-vaccinés, ayant acquis vis-à-vis du virus une immunité très solide, fut saigné et son sérum injecté, à titre préventif, à deux cobayes neufs ; ceux-ci furent inoculés le lendemain avec une dose mortelle, relativement faible, de charbon.

Cobaye D, cuti-vacciné (voir plus haut), reçoit le 4 janvier sous la peau 1 cent. cube de virus charbonneux; le 11 février, il reçoit la même dose de virus dans la peau. La réaction locale est minime. Le 18, il est saigné à blanc.

Le 18 février, son sérum, après centrifugation, est injecté à deux cobayes neufs sous la peau, à la dose de 1 cent. cube par animal. Le lendemain 19, les deux cobayes préparés sont inoculés sous la peau, l'un avec $\frac{1}{4}$ de cent. cube de deuxième vaccin, l'autre avec $\frac{1}{100}$ de cent. cube de virus. Deux cobayes témoins sont inoculés dans les mêmes conditions.

Les deux cobayes préparés sont morts (22 et 23 février) avec de l'œdème caractéristique et des bactériemies dans le sang, après un délai sensiblement égal à celui observé pour les deux témoins (21 et 22 février).

Il ressort de cette expérience que le sang du cobaye cuti-vacciné ne possède pas de propriétés préventives. L'immunité de ce cobaye ne repose donc pas sur la présence des anticorps spécifiques.

Il ne semble pas, de prime abord, qu'il s'agisse d'une immunité locale dans le genre de celle qui caractérise, par exemple, l'abrine. L'immunité à l'abrine, que l'on crée au niveau de la conjonctive oculaire, ne s'étend pas à l'animal tout entier. Non seulement ce dernier n'en bénéficie point, mais ce qui est plus, l'immunité acquise par la conjonctive préparée ne s'étend pas sur la conjonctive de l'autre œil, laquelle resté aussi sensible à l'abrine que celle d'un animal neuf.

Or la cuti-vaccination contre le charbon, qui confère une réelle immunité à l'animal, n'a donc — du moins en apparence — rien de l'immunité strictement locale, qui est propre à la vaccination de l'œil contre l'abrine.

A un moment donné nous nous sommes demandé si ce ne sont pas les leucocytes qui, après être accourus vers la peau au cours de la vaccination, ne deviendraient pas, en s'en retournant dans les organes, distributeurs du principe de l'immunité dans l'économie. Cette idée ne nous a pas retenu longtemps; elle a fait bientôt place à une autre que nous allons exposer.

*
* *

Le point de départ de notre hypothèse est que chez le cobaye il n'existe qu'un organe pour lequel la bactérie ressent une réelle affinité, organe dans lequel elle peut s'implanter, au sein duquel elle peut croître et se multiplier : cet organe est la peau. En dehors de la peau, nous sommes-nous dit,

la bactériémie est vouée à la mort partout où elle pénètre.

Nul n'ignore cependant, nous pourrait-on faire remarquer, que le cobaye succombe à l'inoculation intrapéritonéale ou intratrachéale, tout aussi bien qu'à l'inoculation cutanée ou sous-cutanée.

Certes, le cobaye périt du charbon invariablement, quelle que soit la porte d'entrée du virus; mais, — et c'est là le nœud de la question — il périt toujours, à notre avis, de par la peau. Que l'on inocule le virus dans le péritoine, que l'on en introduise dans la trachée ou ailleurs, on ne manque jamais de constater de l'œdème au point où la peau a été traversée par l'aiguille inoculatrice.

Or, cet œdème est dû à ce que, au cours de ces diverses opérations, on n'a pas su respecter la peau ou le tissu sous-cutané. Involontairement, soit en introduisant l'aiguille pour inoculer le virus, soit en la retirant, on blesse et on souille la peau. Cette blessure gratuite que l'on fait à l'animal, à l'aller et surtout au retour, lui est fatale, car un cobaye touché à la peau avec du virus est un cobaye touché mortellement.

Si cette hypothèse, que nous venons d'énoncer, est vraie, on doit pouvoir injecter impunément le virus, pour peu qu'on évite de contaminer l'appareil cutané :

Cobaye, 465 grammes, reçoit en *injection intratrachéale*, sans que l'on souille la peau, 1/4 de cent. cube de virus charbonneux en bouillon. Survit, sans avoir présenté la moindre réaction, ni locale, ni générale.

Cobaye, 415 grammes, reçoit en *injection intrapéritonéale*, sans que l'on souille la peau, 2 cent. cubes de virus charbonneux. Ne présente aucun trouble. Survit.

Cobaye, 540 grammes, reçoit en *injection intraveineuse*, sans que l'on souille la peau, au moyen d'une très fine aiguille, 1/4 de cent. cube de virus charbonneux dans les veines de l'oreille que l'on chauffe légèrement pour faire mieux apparaître les vaisseaux. Nullement incommodé, l'animal survit définitivement.

Cette opération réussit plus facilement chez le *lapin* auquel nous pouvons injecter impunément dans la veine marginale de l'oreille 1 cent. cube de virus, en prenant les précautions d'usage et en cautérisant le point d'inoculation dès que la canule est retirée.

Nous voyons donc que si l'on fait l'injection, en ayant bien soin de ne pas toucher à la peau, on peut administrer à l'animal une multitude de doses mortelles sans même l'incommoder.

L'opération est délicate, il est vrai; elle peut ne pas réussir. L'œdème, qui apparaît presque toujours au niveau de la piqûre en pareil cas, est l'indice de la faute opératoire commise.

Nous dirons donc, d'après les expériences qui viennent d'être relatées, que la réceptivité du cobaye vis-à-vis du charbon réside principalement, sinon entièrement, dans son appareil cutané (1). Le cobaye infecté avec du charbon ne meurt pas, parce qu'il fait une septicémie d'emblée; il meurt, parce qu'il a sa peau infectée; la septicémie ne vient qu'après.

A la lumière de cette conception, on comprend pourquoi un cobaye cuti-vacciné fait montre d'une immunité si remarquablement solide; on comprend notamment pourquoi l'immunisation locale, n'intéressant que la peau et non suivie de formation d'anticorps, confère néanmoins une immunité générale, s'étendant à l'organisme tout entier. C'est que chez le cobaye il n'existe en réalité qu'un seul organe sensible, son appareil cutané. Du moment où cet organe est vacciné, l'animal n'a plus rien à redouter: le virus a beau venir le frapper dans le péritoine, par la voie respiratoire, ou même sanguine, le cobaye lui oppose la barrière de sa peau vaccinée d'abord, puis, l'état réfractaire naturel de ses autres organes.

Fait intéressant, le cobaye neuf qui tolère, en injection péritonéale ou trachéale, des doses énormes de virus, n'en tire aucun bénéfice quant à sa résistance ultérieure au charbon. Il résulte, en effet, de nos expériences, que, recevant sous la peau une dose mortelle de virus, il périt dans les mêmes conditions qu'un cobaye qui n'avait jamais rien reçu. La bactériémie, qui pénètre ailleurs que dans la peau ou le tissu sous-cutané, passe évidemment inaperçue de l'animal: aussitôt arrivée — dans le péritoine ou dans les poumons — elle y est aussitôt phagocytée et digérée. Sa destruction doit être rapide et totale, car l'animal n'en conserve aucun souvenir.

L'immunisation de l'organe contre le virus marche de pair avec sa sensibilité envers ce virus; ainsi, à la « cuti-infection » charbonneuse répond la « cuti-immunité ».

(1) Par appareil cutané, nous entendons la peau proprement dite et le tissu cellulaire dont il est impossible de la séparer.

CONCLUSIONS

1° Appliqué sur la peau rasée, ou injecté dans l'épaisseur de la peau, le premier vaccin charbonneux donne lieu, chez le cobaye, à une lésion locale curable.

2° Dans les mêmes conditions, le deuxième vaccin donne lieu, chez un cobaye normal, à une réaction cutanée, suivie de septicémie mortelle.

3° Chez le cobaye ayant déjà reçu le premier vaccin dans la peau, l'application cutanée du deuxième vaccin est sans gravité : la réaction reste localisée au niveau de l'inoculation.

4° L'animal ayant résisté au deuxième vaccin, en friction ou dans la peau, survit à l'inoculation de ce même vaccin sous la peau. Dans la suite, il supporte l'inoculation du virus, aussi bien par la voie sous-cutanée que par la voie intracutanée.

5° Le lapin se laisse vacciner contre le charbon avec la même facilité que le cobaye, par la voie cutanée.

6° Le sérum des cobayes cuti-vaccinés ne renferme pas d'anticorps capables de protéger le cobaye neuf contre l'infection charbonneuse.

7° La sensibilité du cobaye neuf vis-à-vis du charbon repose sur celle de son revêtement cutané. Le cobaye neuf est réfractaire à l'inoculation de charbon par toute voie autre que la voie cutanée. Il est de même réfractaire à la vaccination par toute voie autre que la voie cutanée.

8° La cuti-vaccination, en assurant l'immunité locale, a pour effet, paradoxal en apparence, de conférer à l'animal l'immunité générale. Cette dernière est due au concours de deux facteurs : à l'immunité de la peau acquise par la vaccination et à l'état réfractaire naturel de tous les autres organes.

*
* *

Une remarque pour terminer.

N'est-ce pas le cobaye que l'on cite couramment comme l'animal doué d'une extrême sensibilité envers le charbon ? N'est-ce pas au cobaye que l'on a fait une réputation de ne

pas se laisser immuniser contre le charbon? Il est même classique d'ajouter que, si la vaccination du cobaye est impossible, c'est parce que cet animal est d'une réceptivité extraordinaire envers le virus.

Or, nous savons maintenant que le cobaye se montre extraordinairement résistant au charbon, si l'on prend la précaution d'éviter l'introduction de la bactérie dans la peau; nous savons, de plus, aujourd'hui que son immunisation est extrêmement facile, si l'on a soin de vacciner la peau.

Une nouvelle notion s'impose donc au cours des recherches sur l'infection et sur l'immunité: c'est la notion relative à l'*autonomie des organes*. Chaque fois que nous sommes en présence d'un agent infectieux ou toxique, prenons l'habitude de nous demander non seulement si l'animal est sensible, mais encore s'il ne possède pas un organe particulièrement réceptif; de plus, si, en vaccinant électivement cet organe, on n'arriverait pas à immuniser l'animal tout entier.

Dans nos recherches antérieures, nous avons montré la part prédominante qui est dévolue, au cours de certaines maladies infectieuses, à l'immunité locale de l'*intestin* et des *poumons*. Le cobaye charbonneux nous offre un bel exemple de l'autonomie de la *peau* devant l'infection et l'immunité, tant acquise que naturelle.

LE RÔLE DES MOUCHES
DANS LE TRANSPORT DES GERMES PATHOGÈNES
ÉTUDIÉ
PAR LA MÉTHODE DES ÉLEVAGES ASEPTIQUES (1)

par E. WOLLMAN.

L'idée que les mouches (2) jouent un rôle dans la propagation des maladies infectieuses est très ancienne. Au xvi^e siècle, pour ne pas remonter plus loin, Ambroise Paré et Mercurial leur attribuaient un rôle dans la dissémination du virus de la peste; au xvii^e, Sydenham croyait à un rapport entre l'abondance des mouches et la morbidité. Cette idée a pris corps avec la découverte des microbes pathogènes. Par son genre de vie, par ses habitudes, par les particularités de sa structure anatomique, la mouche semble, en effet, tout particulièrement adaptée au transport de germes de toute nature. Elle fréquente indifféremment les détritux de toute sorte, les excréta, les sécrétions pathologiques ou normales. « Ses pattes sont de véritables petites brosses en miniature qu'aucun nettoyage ne semble plus pouvoir débarrasser des germes ramassés (3). »

De fait, tout au début de l'ère bactériologique, Raimbert (1869) [4] et Davaine (1870) [5] établissaient expérimentalement qu'on pouvait communiquer le charbon aux animaux en déposant sur la peau excoriée des mouches qui s'étaient nourries de sang charbonneux, ou en inoculant sous la peau les pattes et les trompes de ces mouches.

D'autres recherches déjà anciennes de Maddox (6), de Sawt-

(1) *C. R. Ac. Sc.*, **172**, p. 298.

(2) En parlant de mouches, nous avons surtout en vue la mouche domestique et, accessoirement, les types voisins : *Calliphora*, *Lucilia*, etc.

(3) HEWITT. *Houseflies and how they spread disease*, Cambridge, 1912.

(4) *C. R. Acad. Sciences*, **69**.

(5) *Bull. Acad. Méd.*, **35**.

(6) *Journ. R. Micr. Soc.*, **5**, 1883.

chenko (1), de Simmonds (2), signalent la présence du vibron cholérique dans les fèces de mouches qui avaient absorbé cette bactérie. Celli (3) aurait isolé le bacille typhique dans les mêmes conditions. Malheureusement, étant donnée l'imperfection des méthodes de diagnostic dont on disposait au moment de ces recherches, les résultats perdent une grande partie de leur valeur.

La question a été reprise plus récemment, avec des méthodes modernes. De nombreux chercheurs se sont efforcés de préciser les conditions dans lesquelles se faisait la dissémination des microbes par les mouches; la durée de survie des différents germes pathogènes dans l'intestin et à la surface du corps de ces insectes; le sort des germes englobés à l'état de larves. Nous commencerons par résumer les recherches consacrées à cette dernière question.

Les larves de mouches se développent, entre autres, dans les cadavres et les excréments; elles peuvent donc, dès ce stade, être contaminées par des germes pathogènes. Ceux-ci se retrouvent-ils chez l'insecte adulte? La question a son importance, et pour Galli-Valerio, notamment, un tel passage expliquerait la recrudescence, à des périodes espacées, de certaines épidémies (4). Elle semble avoir été abordée expérimentalement pour la première fois par Cao (5) en 1906.

Cet auteur aurait retrouvé chez la mouche adulte des germes (*Bactéridie charbonneuse*, *B. prodigiosus*, *B. fluorescens*, *sarcines*, *staphylocoques*) administrés aux larves. N'ayant pu retrouver le travail original, nous ne savons pas si toutes les précautions avaient été prises contre la réinfection des mouches nouvellement écloses. Nous ferons remarquer toutefois que certaines des bactéries employées appartiennent à la flore banale des mouches, ce qui introduit une source d'erreur considérable.

Quelques années plus tard Faichnie (6) émettait à son tour

(1) Analysé dans ces *Annales*, 7, p. 222.

(2) *Deutsch. med. Woch.*, 1892.

(3) Cité d'après Graham-Smith. *Flies in relation to disease*, p. 129.

(4) L'état actuel de nos connaissances sur le rôle des mouches, etc. *Centralbl. f. Bakt.*, 54, p. 193, 1910.

(5) Cité d'après Krontowski, *Centralbl. f. Bakt.*, 68, p. 586, 1913.

(6) *Journ. R. Army med. Corps*, 13, 1909 (d'après Graham-Smith, p. 114).

l'hypothèse de la survie, chez l'insecte parfait, des germes englobés par les larves. Le fait expliquerait, d'après lui, certaines particularités d'une épidémie de typhoïde qu'il venait d'observer à Kamptée, Indes anglaises. Pour le vérifier il institua les expériences suivantes.

Des mouches provenant de larves élevées sur des matières fécales typhiques (paratyphiques dans une autre expérience) furent flambées, lavées dans de la solution physiologique, puis écrasées. Alors que l'eau de lavage ensemencée dans du bouillon n'a pas donné de culture pendant quarante-huit heures, les mouches écrasées, âgées de un à seize jours, donnèrent toutes des cultures de *B. typhique*. Faichnie en conclut que les bacilles typhiques et paratyphiques englobés par les larves se retrouvent dans l'intestin de l'insecte parfait. Malheureusement, les matières fécales étant restées dans la boîte d'élevage jusqu'à l'éclosion des mouches, rien ne permet d'exclure l'infection de celles-ci après éclosion. D'autre part, l'identification des germes isolés n'a été faite que d'après leurs caractères biochimiques (milieu de MM^e Conkey). Nous verrons plus loin que ceux-ci ne suffisent pas pour différencier les bacilles typhiques et paratyphiques de certains germes de la flore normale de la mouche.

Bacot (1) reprend les expériences de Faichnie. Pour parer à la difficulté que nous venons de signaler, il contamine les larves de mouche domestique avec un germe facile à identifier : le *B. pyocyannique*. Les pupes sont désinfectées au lysol, lavées dans un premier tube de bouillon et écrasées ensuite dans un deuxième tube. Le deuxième tube seul donne une culture abondante de *B. pyocyannique* dans tous les cas, le premier donnant une culture discrète dans quelques cas seulement. Quelques mouches écloses ont été traitées de la même façon. Dans une partie des cas, seul le dernier tube de bouillon, dans lequel les mouches furent écrasées, donne une culture de *B. pyocyannique*. Ces expériences établissent la persistance du *B. pyocyannique* à l'intérieur des pupes. Son passage chez les mouches nous semble moins certain, étant donné que la surface des pupes n'avait pas été stérilisée avant l'éclosion

(1) *Parasitologie*, 4, 1911.

et que l'infection au cours de celle-ci est toujours possible. Quoi qu'il en soit, Bacot conclut de ses expériences que l'hypothèse du passage de germes pathogènes de la larve à la mouche mérite d'être prise en considération. Ledingham (1) a pu, avec une technique un peu différente, confirmer les résultats de Bacot sur la persistance du *B. pyocyannique* à l'intérieur des pupes.

Par contre, dans une série d'expériences sur le *B. typhique* (2), cet auteur n'a pu retrouver ce germe ni chez les pupes, ni chez les insectes parfaits. Seule, une expérience dans laquelle les œufs avaient été stérilisés au lysol et les larves nourries de sang mélangé de *B. typhique* a permis de retrouver le bacille à l'intérieur d'une pupa : il n'y a pas eu éclosion de mouches. Ledingham insiste sur les difficultés que présente l'isolement du *B. typhique* par suite de la présence chez la mouche de bactéries dont les colonies sont identiques à celles du bacille d'Eberth.

Graham-Smith (3), auquel nous devons les recherches les plus complètes sur le transport des germes par les mouches, a fait des expériences nombreuses sur la question qui nous occupe. Il contaminait des larves de *Calliphora* avec différentes bactéries : bactéridie charbonneuse, *B. typhique*, *B. enteritidis*, *B. prodigiosus*, *Vibron cholérique*. Il n'a pu isoler ni des larves (après lavage à l'alcool et flambage), ni des pupes, ni des mouches aucun des germes asporulés. Par contre la bactéridie charbonneuse a pu être isolée des larves ainsi que de 13 mouches sur 17 examinées. Graham-Smith en conclut que seuls les germes sporulés survivent assez longtemps pour se retrouver chez l'insecte adulte. Ici encore nous ferons remarquer qu'aucune stérilisation des pupes avant éclosion n'ayant été faite, la réinfection des mouches ne saurait être exclue. La répartition des bactéridies chez les mouches infectées semble parler en faveur de cette hypothèse ; dans aucun cas il n'a été possible de les retrouver dans le liquide émis par la mouche peu de temps après l'éclosion ; les bactéridies étaient présentes sur les pattes chez 12 mouches sur les 13 ayant donné un résultat positif.

(1) *Ibid.*

(2) *Journ. of Hyg.*, 41, 1911.

(3) Graham-Smith, p. 116.

Krontowski (1), expérimentant sur des larves de *Sarcophaga*, de *Lucilia*, de mouche domestique, contaminées par le *B. typhique* et le bacille de Shiga, n'a jamais pu retrouver ces germes chez les mouches adultes. Tebbut (2), expérimentant avec le *Bacille dysentérique* (type Y) et le *Bacille typhique*, a, dans quelques expériences, stérilisé les œufs au lysol. Il n'a jamais pu retrouver le *B. typhique* chez les mouches provenant de larves ainsi contaminées; pour ce qui est du bacille Y il a été retrouvé chez 2 mouches et chez une partie des pupes. (Ici encore nous devons appeler l'attention sur le fait que la surface des pupes n'avait pas été stérilisée avant l'éclosion des mouches.) Tebbut conclut de ses expériences que l'éventualité du passage de germes pathogènes chez l'insecte adulte doit être considérée comme fort peu probable.

Cette conclusion nous paraît, du reste, se dégager de l'ensemble des recherches que nous venons de résumer: à part, peut-être, les résultats de Bacot pour le *B. pyocyannique*, il semble bien que les germes pathogènes sur lesquels on a expérimenté ne survivent pas chez l'insecte parfait. Toutefois, celui-ci peut se réinfecter au moment de l'éclosion, ce qui nous amène à étudier les conditions de dissémination de germes par les mouches contaminées à l'état adulte. De très nombreux travaux ont été consacrés à cette question. Nous en rappellerons les plus importants.

BACILLES DU GROUPE DES TYPHIQUES ET DES PARATYPHIQUES. — Firth et Horocks (3) plaçaient des mouches domestiques dans une grande boîte dans laquelle ils introduisaient des cultures de *B. typhique*. Des récipients avec de la gélose et du bouillon disposés dans cette boîte ont présenté des cultures abondantes de *B. typhique*. Par contre, ces auteurs n'ont pu isoler ce bacille de taches fécales recouvrant une feuille de papier placée, à cet effet, dans la boîte. Ils concluent de leurs expériences que le *B. typhique* ne survit pas pendant son passage à travers l'intestin de la mouche et que c'est surtout sur la surface du

(1) *Centralbl. f. Bakl.*, 68, p. 586, 1913.

(2) *Journ. of Hyg.*, 12, p. 516, 1913.

(3) *Brit. Med. Journ.*, 1902, p. 936.

corps que cet insecte transporte les germes dont il a pu se contaminer.

Ficker (1) place des mouches domestiques sur des cultures de *B. typhique* et les transporte ensuite dans de grands flacons qu'on change tous les 2-3 jours. Il a essayé, sans succès, d'isoler le microbe contaminant en ensemençant à différents intervalles des mouches broyées : les cultures étaient envahies par d'autres bactéries et, notamment, par le *Proteus*. Ce n'est qu'en ensemençant des morceaux de papier-filtre stérilisé et exposé à la visite des mouches que Ficker a réussi à isoler le bacille typhique. Dans un cas le résultat a été positif vingt-trois jours après le repas infectant. D'autre part, en ensemençant les organes isolés, Ficker a pu isoler le *B. typhique* de la tête après un intervalle de cinq jours, de l'intestin après un intervalle de neuf jours. *Les germes isolés ont été identifiés par l'agglutination.*

Graham-Smith (2) plaçait de grandes quantités de mouches domestiques dans des cages en gaze et les nourrissait avec du sirop de sucre, additionné d'émulsion de *B. typhique*; dans ces conditions le *B. typhique* a pu être isolé pendant quarante-huit heures après le repas infectant des fèces de ces mouches et des boîtes de gélose visitées par elles; il a pu être isolé pendant cinq jours du contenu intestinal. Le *B. enteritidis* a pu être isolé pendant sept jours de l'intestin des mouches expérimentalement infectées.

De très intéressantes expériences ont été faites par cet auteur avec le virus de Danysz (3). Du pain trempé dans du lait fut exposé à diverses reprises à des mouches précédemment nourries avec des émulsions de virus. Des souris qui ont mangé de ce pain visité par les mouches quatre jours après le repas infectant contractèrent la maladie mortelle.

En dehors de ces données expérimentales sur la survivance des bactéries de ce groupe chez la mouche, nous devons citer les observations de Bertarelli (4) qui a isolé le *B. typhique* de 8 mouches sur 120 prises dans une chambre où il y avait eu

(1) *Arch. f. Hyg.*, **46**, p. 274, 1903.

(2) *Flies in relation to disease*, Cambridge, 1913, p. 130, 146.

(3) Cité d'après Hewit. *The House-fly*, Cambridge, 1914, p. 294.

(4) *Centralbl. f. Bakt.*, **53**, p. 486, 1910.

6 cas de fièvre typhoïde; de Faichnie et de Cochrane (1) qui ont pu isoler le même bacille de mouches sauvages capturées au cours de petites épidémies de typhoïde aux Indes. Tous ces auteurs ont eu soin d'identifier sérologiquement les germes isolés. Il en a été de même pour un *paratyphique B.* isolé de 2 mouches par Nicoll (2) et d'un paratyphique A isolé de 3 mouches par Porrey (3).

BACILLES DYSENTÉRIQUES. — Auché (4) montre que des mouches nourries sur des glaires ou sur des cultures dysentériques (Flexner) ensemencent le bacille de Flexner pendant trois heures après le repas contaminant.

Krontowski (5) retrouve le *B. dysentérique* (Shiga) pendant trois jours à la surface du corps des mouches contaminées par ce bacille; il isole celui-ci de l'intestin deux jours et des fèces trois jours après la contamination.

VIBRION CHOLÉRIQUE. — Tsuzuki (6), Chantemesse (7), Graham-Smith (8) isolent cette bactérie de mouches contaminées. D'après ce dernier auteur, on ne retrouve le vibrion que pendant quarante-huit heures dans l'intestin, et pendant trente heures dans les fèces après le repas infectant.

B. TUBERCULEUX. — Spillmann et Haushalter (9) ont été les premiers à attirer l'attention sur le rôle de la mouche domestique dans la dissémination du bacille tuberculeux. Ils ont constaté la présence de nombreux bacilles dans le contenu intestinal et les fèces de mouches qui avaient été nourries sur des crachats tuberculeux. Lord (10) constate que des mouches nourries sur des crachats tuberculeux éliminent de grandes quantités de bacilles avec leurs déjections. Il a compté 2 à

(1) Cité d'après Graham-Smith, p. 130.

(2) *Journ. of Hyg.*, **41**, p. 381, 1912.

(3) *Journ. Inf. Diseases.*, **10**, p. 166, 1912.

(4) *C. R. Soc. Biol.*, **2**, 1903, p. 450.

(5) *Centralbl. f. Bakt.*, **68**, 1913, p. 586.

(6) Cité d'après Graham-Smith, p. 173.

(7) CHANTEMESSE et BOREL, *Mouches et choléra*, Paris, Baillière, 1906.

(8) P. 173.

(9) *C. R. Acad. Sciences.* **105**, 1887.

(10) *Flies and Tuberculosis*, *Boston Med. Journ.*, 1904, p. 631, d'après Graham-Smith.

3 000 bacilles par tache fécale. Les bacilles contenus dans ces taches se sont montrés virulents pour le cobaye quinze jours après l'émission des fèces; ils ne l'étaient plus vingt-huit jours plus tard. Graham-Smith (1) nourrissait des mouches sur des cultures pures de bacille tuberculeux ainsi que sur des crachats. Dans le premier cas, les bacilles se retrouvent en grand nombre dans l'intestin pendant six jours; dans certains cas, on peut retrouver des bacilles isolés pendant douze jours et même plus. Lorsque les mouches sont nourries sur des crachats tuberculeux, on retrouve le bacille de Koch pendant quatre jours dans l'intestin et les fèces.

BACILLE DE LA LÈPRE. — Wherry (2), expérimentant avec le bacille de Stefansky, retrouve ce microbe dans les fèces de mouches nourries avec de la matière infectée. Lebœuf (3), examinant le contenu intestinal et les déjections de mouches qui s'étaient gorgées sur des ulcères lépreux, constate la présence du bacille de Hansen en grand nombre trente-six heures après le repas infectant. Currie (4) retrouve les bacilles lépreux pendant quatre jours dans l'intestin de mouches domestiques. Marchoux (5) nourrit des mouches sur de la pulpe ganglionnaire riche en bacilles de Stefansky. Des rats blancs, chez lesquels on a pratiqué une boutonnière de un centimètre sur le dos, sont exposés à la visite de ces mouches. On constate, dans ces conditions, que l'infection par contact ne se produit que pendant un temps très court, les bacilles qui se trouvent à la surface du corps succombant très vite à la dessiccation. Ils restent vivants pendant quatre jours au moins dans l'intestin ainsi que le montre l'inoculation du contenu.

B. DIPHTÉRIQUE. — Les expériences de Nuttall et Graham-Smith (6) semblent montrer que cette bactérie ne survit que quelques heures à la surface du corps des mouches; elle résisterait vingt-quatre heures dans le contenu intestinal. Les

(1) Graham-Smith, p. 177.

(2) *Journ. Inf. Diseases.*, 5, p. 507, 1908.

(3) *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 5, p. 860, 1912.

(4) Cité d'après Marchoux. *Ces Annales*, 30, p. 81, 1916.

(5) *Ces Annales*, 30, p. 81, 1916.

(6) Graham-Smith, p. 186.

auteurs ajoutent, du reste, que l'isolement du bacille diphtérique n'a souvent pu être fait par suite de l'envahissement des cultures par des germes banaux, ce qui fausse les résultats des expériences.

B. CHARBONNEUSE. — Nous ne nous arrêterons pas aux recherches de Celli, de Sangrée, de Buchanan, qui n'ajoutent rien aux résultats de Raimbert et de Davaine mentionnés plus haut. Graham-Smith (1) reprend la question en étudiant le transport par les mouches de la bactéridie asporulée, telle qu'elle se trouve dans l'organisme animal, et des bacilles sporulés. Dans le premier cas, les mouches étaient nourries sur le cadavre d'une souris morte d'infection charbonneuse. Tous les jours un certain nombre de mouches étaient sacrifiées, leurs organes et le contenu intestinalensemencés. Ces expériences montrent que la bactéridie ne survit guère plus de vingt-quatre heures sur la surface du corps, alors qu'on peut la retrouver vivante pendant trois jours dans le contenu intestinal et même pendant cinq jours dans celui du jabot, lorsque celui-ci contient du sang. Pour ce qui est des bactéridies sporulées, elles survivraient, d'après Graham-Smith, pendant vingt jours et plus sur la surface du corps et dans le contenu intestinal.

Il résulte de l'ensemble des recherches que nous venons d'exposer que les mouches contaminées par des germes pathogènes peuvent les véhiculer pendant un temps plus ou moins long et, par conséquent, contribuer à la propagation des maladies correspondantes. L'importance du rôle des mouches dépendra, évidemment, de la nature des germes, de la porte d'entrée de l'infection. Pour une même infection elle variera avec le climat, la facilité d'accès aux matières infectieuses (conditions hygiéniques), etc. Les observations de Niven (2) sur la diarrhée infantile; celles de Faichnie, de Cochrane, de Ainsworth (3) sur la fièvre typhoïde; celles de Chantemesse sur le choléra; celles de Lauber (4) sur la dysenterie bacillaire, semblent montrer que, dans les infections d'origine intestinale,

(1) Graham-Smith, p. 181.

(2) *Proc. Roy. Soc. med.*, p. 131.

(3) D'après Graham-Smith, p. 131.

(4) *Centralbl. f. Bakt.*, 84, p. 201, 1920.

le rôle des mouches peut être considérable ou même prépondérant. Il serait donc important de préciser les conditions de

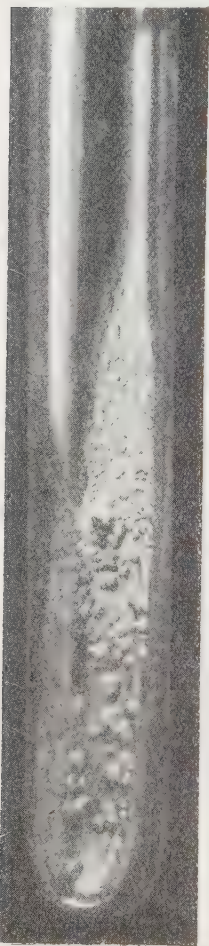


Fig. 1. — Culture pure de *B. Shiga* ensemencée par une mouche domestique dans un tube de gélose inclinée.

transport par les mouches des agents de ce groupe d'affections. Or, de telles recherches se heurtent à de grosses difficultés du fait de la richesse de la flore normale de la mouche. Cox, Lewis et Glynn (1) ont montré, par des expériences soigneuses, que le nombre de germes transportés par une mouche peut s'élever à plusieurs centaines de millions. L'isolement d'un germe quelconque devient, dans ces conditions, aléatoire. La difficulté devient presque insurmontable dans le cas des germes qui nous occupent plus spécialement : le *B. typhique*, les *paratyphiques*, les *bacilles dysentériques*. Ainsi que l'ont vu Ledingham et Graham-Smith, et que nous avons pu le constater nous-même, la flore normale de la mouche est constituée, pour une grande part, de bactéries qui ne se différencient de ces germes ni par la morphologie, ni par l'aspect des colonies, ni par les caractères biochimiques ; seules les réactions sérologiques permettent de se prononcer sur leur nature. On conçoit qu'il soit impossible, dans ces conditions, d'affirmer, même après examen de très nombreuses colonies, l'absence de la bactérie cherchée. On a voulu tourner la difficulté en employant des bactéries chromogènes, facilement décelables ; mais il va de soi que les résultats obtenus avec ces micro-organismes ne sauraient être étendus, sans preuves, aux germes pathogènes qui nous occupent.

Pour toutes ces raisons, il nous a semblé intéressant de reprendre l'étude du transport des germes

(1) *Journ. of Hyg.*, **12**, p. 290, 1912.

pathogènes par les mouches, par la méthode des élevages aseptiques. En l'absence de microbes autres que ceux intro-



Fig. 2. — Culture pure de *B. typhique*ensemencée par une *Calliphora* sur gélose lactosée tournesolée contenue dans une boîte de Roux.

duits par l'expérience, les résultats sont d'une netteté et d'une précision très grandes. On peut, en effet, recourir aux épreuves les plus rigoureuses, telles que l'ensemencement en milieu

liquide. Dans tous les cas, la présence du germe cherché est révélée par une culture pure [voir figures 1, 2, 3 (1)]; en son absence le milieu reste stérile. On peut également recourir à l'inoculation intrapéritonéale, intraveineuse, intraoculaire.

Enfin, chez les mouches aseptiques, les germes sont soustraits à la concurrence des bactéries normales. Les durées de survie observées peuvent donc être considérées comme des *durées limitées* et nous guider dans la pratique, pour les mesures à prendre (2).

Nous avons vu plus haut que, dans la nature, la contamination des mouches pouvait se produire au stade larvaire ou à celui d'insecte parfait. Dans le premier cas, il faut établir le sort des germes ingérés par les larves. Dans le deuxième, le temps pendant lequel les insectes contaminés restent porteurs de germes. De là, deux séries d'expériences.

I. — Contamination au stade larvaire. Sort des germes ingérés par les larves.

Les expériences de cette première série ont porté sur les larves de la mouche à viande (*Calliphora vomitoria*), celles de la mouche verte (*Lucilia cesar*) et celles de la mouche domestique. Toutes ces mouches peuvent, en effet, déposer leurs œufs, entre autres, sur des cadavres ou les déjections humaines (Howard). Les larves peuvent, par conséquent, dès leur éclosion, se trouver en contact avec des bactéries pathogènes.

Voici, brièvement, la technique employée (3).

L'amas d'œufs est dissocié sur une petite nappe de coton de verre, qu'on roule et qu'on introduit dans un tube spécial dans lequel on fait arriver, alternativement, du sublimé à 1 p. 2.000 et de l'eau stérile, les œufs étant soumis à l'action du sublimé pendant cinq à six minutes en tout. Après un dernier lavage à l'eau stérile, la nappe de coton de verre est étalée dans une boîte de Petri stérile et les œufs sont trans-

(1) Photographies faites par M. Jeantet.

(2) Etant données les conditions dans lesquelles les germes introduits sont éliminés (voir plus loin), il ne semble pas qu'il y ait lieu de tenir compte des bactéries favorisantes.

(3) Ces *Annales*, 25, 79, 1911.

portés, un à un, ou par plusieurs, dans les tubes renfermant la nourriture des larves. Cette nourriture est constituée par de la cervelle stérilisée dans le cas des larves de *Lucilia* ou de *Calliphora* (1), par du crottin de cheval stérilisé pour les larves de la mouche domestique. Après éclosion des larves et vérification



Fig. 3. — Une partie de la même culture montrant les traces laissées par les ailes mouillées de la mouche.

de la stérilité, on introduisait dans les tubes contenant les larves les émulsions des microbes pathogènes à étudier. Les expériences ont porté sur le *B. typhique*, le *B. dysentérique* (*Shiga*), le *B. tuberculeux* et la bactérie charbonneuse. Dans la pratique c'est, en effet, la contamination par les bacilles du groupe du *typhique*, des *paratyphiques*, des *dysentériques* qui doit se réaliser le plus souvent, les larves pouvant rencontrer

(1) *C. R. Soc. Biol.*, **82**, 593, 1919.

ces germes dans les déjections de malades ou des porteurs. Le bacille tuberculeux peut, lui aussi, être éliminé en quantités considérables avec les déjections (1), Enfin, la bactériodie charbonneuse, microbe sporulé, peut se rencontrer, dans la nature, dans les habitats de larves de muscides.

Après transformation des larves, le microbe contaminant était recherché dans les pupes et chez les insectes parfaits. Dans le premier cas, on flambait une extrémité de la pupa, on la faisait sauter avec un ciseau stérile et on prélevait le contenu avec une pipette Pasteur. Dans le second, les mouches étaient recueillies sur des milieux nutritifs solides ou liquides; dans une partie des cas les pupes étaient stérilisées au sublimé avant l'éclosion des mouches.

1° Expériences avec le *B. typhique*.

a) Larves de *Calliphora* écloses le 22 juillet; *B. typhique* ajouté le lendemain; pupes formées du 1^{er} au 5 août.

Le contenu de deux pupes non écloses estensemencé le 29 septembre; on trouve du *B. typhique* abondant en culture pure.

L'intestin d'une mouche morte peu de temps après l'éclosion estensemencé : culture abondante de *B. typhique*.

b) Larves de *Calliphora* écloses le 31 août; *B. typhique* ajouté le 3 septembre, deux pupes formées le 10; une de ces pupes est lavée au sublimé, l'autre transportée dans un tube stérile sans désinfection préalable. Cette dernière donne une mouche le 19; le 22 on transporte celle-ci dans une boîte de Roux contenant de la gélose lactosée tournesolée. Au bout de quelques heures, la mouche se noie dans l'eau de condensation. La boîte de Roux, mise à l'étuve, montre de nombreuses colonies de *B. typhique*.

La pupa lavée au sublimé ne donne pas de mouche; le contenu estensemencé le 28 septembre et donne une abondante culture de *B. typhique*.

c) Larves de *Lucilia* écloses le 5 août; *B. typhique* ajouté le 10; contenu d'une pupaensemencée le 30 : *B. typhique*. Mouche éclore le 11 septembre est mise sur gélose lactosée tournesolée le 22 : *B. typhique* abondant.

d) Larves de mouche domestique écloses le 7 octobre; *B. typhique* ajouté le 8; pupes à partir du 14; trois pupes lavées au sublimé; mouches écloses le 25; elles sont transportées sur gélose : celle-ci reste stérile. Le 27, deux de ces mouches sont recueillies dans un tube de bouillon : celui-ci reste stérile. Une mouche provenant d'une pupa non lavée au sublimé est recueillie, aussitôt l'éclosion, sur gélose inclinée. Celle-ci reste stérile.

2° Expériences avec le *B. dysentérique* (Shiga).

a) Larves de *Lucilia* du 5 août; ajouté *B. Shiga* le 10. Une mouche éclore le 31 est portée aussitôt sur gélose lactosée tournesolée; la gélose reste stérile.

(1) CALMETTE. Ces *Annales*, 33, p. 61, 1919.

b) Larves de *Calliphora* écloses le 31 août; ajouté du *B. Shiga* le 3 septembre. Une mouche éclôt le 23; les déjectionsensemencées *se montrent stériles*; mise le 24 sur gélose; *celle-ci reste stérile*. L'intestin de cette mouche est retiré etensemencé le 28; *la gélose reste stérile*. Une autre mouche éclôt le 24; *les déjections sont stériles*; l'intestin est enlevé etensemencé le 28 : *il est stérile*. Une mouche éclôt le 26. Une gouttelette de liquide regurgité estensemencée : *B. dysentérique en culture pure*. L'intestin de cette mouche est enlevé etensemencé sur gélose inclinée : *culture abondante de Shiga*. La pupes ayant donné naissance à cette mouche est écrasée etensemencée sur gélose inclinée le 29 : *culture abondante de Shiga*.

Le contenu de deux pupes provenant des larves du 31 août et celui d'une pupes du 23 estensemencé le 28 : *toutes les trois donnent une culture abondante de Shiga*.

c) Quatre larves de mouche domestique écloses le 7 octobre sont contaminées avec du *Shiga* le 8. Les pupes sont stérilisées au sublimé. Les mouches éclosent le 26 et sont mises sur gélose pendant deux heures : *la gélose reste stérile*. Il en est de même de deux mouches provenant de pupes non stérilisées au préalable : mises sur gélose aussitôt après l'éclosion *le milieu reste stérile*.

3° Expériences avec la bactériidie charbonneuse.

14 décembre, éclosion d'une mouche provenant d'une larve contaminée de bactériidies filamenteuses et sporulées et dont la pupes a été stérilisée au sublimé. Mise sur gélose *elle laisse le milieu stérile*. Recueillie ensuite dans du bouillon celui-ci reste également stérile. 7 janvier, éclosion de deux mouches provenant de larves contaminées de bactériidies et dont les pupes ont été stérilisées au sublimé. Les deux mouches sont aussitôt mises sur gélose : *le milieu reste stérile*.

4° Expériences avec le *B. tuberculeux*.

Larves de *Calliphora* écloses le 1^{er} septembre sont contaminées de *B. tuberculeux* bovin le 3. On trouve deux pupes le 10. Une de ces pupes est stérilisée au sublimé. La pupes non stérilisée donne naissance à une mouche le 19. Celle-ci est tuée le 24 et broyée dans un peu d'eau stérile. Le produit du broyage est inoculé dans la chambre antérieure de l'œil droit du lapin 38 M. et sous la peau du cobaye 37 M. La pupes stérilisée au sublimé donne naissance à une mouche le 24; celle-ci est aussitôt broyée et injectée au cobaye 36 M. Aucun de ces trois animaux n'a présenté d'accident tuberculeux : observation pendant deux mois et autopsie.

Les expériences que nous venons de décrire montrent que les germes pathogènes employés ne passent pas de la larve à l'insecte parfait. La stérilité absolue a, en effet, été observée chaque fois que les pupes avaient été au préalable, désinfectées au sublimé. Il en a été de même pour la plus grande partie des pupes qui n'avaient pas été stérilisées. Dans une partie des cas les mouches provenant de celles-ci ont donné des cultures du microbe contaminant : il y a eu réinfection au contact de la

pupe. En effet, dans tous les cas, l'ensemencement des pupes, soit avant, soit après l'éclosion des mouches, a donné des cultures des germes employés (expériences faites avec le *B. typhique* et le *B. dysentérique*). Cette réinfection semblait se produire plus facilement pour les pupes de *Calliphora* et de *Lucilia* que pour celles de la mouche domestique : la surface des premières est couverte d'une couche gluante provenant de la digestion de la cervelle, alors que la surface des pupes formées dans le crottin est tout à fait nette et sèche.

La non-persistance des bactéries pathogènes étudiées chez l'insecte parfait ne s'explique pas, comme le pense Graham-Smith, par le fait que celles-ci ne vivent pas assez longtemps à l'intérieur des pupes : dans les cas où la métamorphose ne s'achève pas, le contenu de celles-ci donne une culture abondante, après des intervalles très longs (deux mois). La disparition des bactéries semble être en relation avec les processus qui se déroulent pendant la métamorphose (1). La dernière mue débarrasse la larve, mécaniquement, des germes fixés sur la surface du corps. Il en est de même des microbes qui se trouvent dans l'intestin : exuviation de l'épithélium de l'intestin moyen, détachement du revêtement chitineux de l'intestin antérieur. Enfin, les germes qui n'ont pas été expulsés mécaniquement, ceux, notamment, qui se trouvent dans l'intestin postérieur sont probablement détruits par phagocytose, en même temps que le revêtement épithélial de cette partie du tube digestif.

Ces résultats (2) sur la disparition chez l'insecte adulte des bactéries pathogènes ingérées par les larves sont en complet accord avec ceux de Tebbut, de Ledingham, de Krontowski et, en très grande partie, avec ceux de Graham-Smith. Toutefois, ce dernier auteur admet le passage, dans une partie des cas, de la bactériodie charbonneuse. Il a, en effet, retrouvé ce bacille

(1) PÉREZ, Recherches histologiques sur la métamorphose des muscides. *Arch. de Zool. expér.*, 44, 1910.

(2) Il ne semble pas qu'on puisse étendre les résultats obtenus à toutes les bactéries. Certains microbes de la flore normale de la mouche peuvent passer de la larve à l'insecte parfait. Il ne nous a été possible d'obtenir qu'une faible proportion de mouches aseptiques en stérilisant la surface des pupes ordinaires. Il semble en être de même pour le bacille pyocyanique (expériences de Bacot).

sporulé dans treize mouches sur dix-sept examinées. Pourtant, dans ces cas, la réinfection par la surface de la puppe nous paraît probable. Il n'est fait aucune mention de la stérilisation de celles-ci ; d'autre part, la bactériodie était absente des matières blanchâtres expulsées par les mouches aussitôt après l'éclosion, et se retrouvait, par contre, sur les pattes, chez douze mouches sur treize.

Par contre, nos résultats sont en désaccord avec ceux de Faichnie. Or, dans les expériences de cet auteur, aucune précaution n'a été prise pour éviter la réinfection des mouches par les déjections typhiques (ou paratyphiques) sur lesquelles les larves s'étaient développées.

II. — Transport des germes pathogènes par les mouches adultes.

Les expériences de cette série ont porté sur la mouche domestique. C'est, en effet, cette espèce surtout qui entre en ligne de compte, à l'état d'insecte parfait, comme véhicule de germes pathogènes pour l'homme.

Les mouches étaient mises sur culture pure du microbe à étudier (culture sur gélose pour les bacilles typhique et dysentérique, la bactériodie charbonneuse ; culture sur milieu liquide de Besredka pour le bacille tuberculeux). On les recueillait ensuite dans de petits ballons contenant du coton hydrophile imbibé d'un peu de lait et d'eau (1). La présence ou l'absence du germe cherché étaient constatées en faisant passer les mouches à différents intervalles, sur milieu nutritif, gélose ou bouillon (par inoculation, pour le *B. tuberculeux*).

Expériences avec le *B. typhique*.

17 octobre. Une mouche est mise sur culture de *B. typhique*. L'intestin de cette mouche est enlevé le 20 etensemencé : culture abondante de *B. typhique*.

26 octobre. Une mouche est mise sur culture de *B. typhique* pendant deux heures ; mise sur gélose le 27 : culture abondante de *B. typhique* ; remise sur

(1) Pour le transport des mouches aseptiques d'un récipient à l'autre, on se sert de leur phototropisme positif très prononcé : le tube ou le goulot du ballon contenant les mouches est flambé et introduit dans le goulot du récipient dans lequel on veut les transporter. On dirige ensuite celui-ci vers la lumière en chauffant légèrement le récipient qui contient les mouches.

gélose le 30 : *B. typhique*; remise sur gélose le 4 novembre; *B. typhique*, le 10 la mouche meurt; ensemencée sur gélose inclinée elle donne une culture abondante de *B. typhique*.

2 novembre. Deux mouches mises sur culture de *B. typhique* pendant deux heures. Mises sur gélose inclinée le 5, elles donnent toutes les deux des cultures abondantes de *B. typhique*. A partir du 5, l'une de ces mouches est transportée tous les deux jours dans un ballon stérile; remise sur gélose inclinée le 19, *la mouche se montre stérile*; recueillie dans du bouillon le 20, *le bouillon reste définitivement stérile*. L'autre mouche est remise sur gélose le 17 et le 24, et *donne chaque fois une culture abondante de B. typhique*.

30 octobre. Mouche mise sur culture de *B. typhique*; mise sur gélose le 9 novembre; culture abondante de *B. typhique*.

4 novembre. Mouche mise sur culture de *B. typhique*; mise sur gélose le 23, celle-ci reste stérile; il en est de même le 24; mise dans du bouillon le 4 décembre, *le bouillon reste stérile*.

10 novembre. Deux mouches sont mises sur une culture de *B. typhique*; elles sont ensuite transportées dans des ballons neufs tous les deux jours. Mises sur gélose inclinée le 20, *celle-ci reste stérile*.

Expériences avec le *B. dysentérique* (Shiga).

13 octobre. Une mouche est mise sur culture de *B. Shiga*. Mise sur gélose le 21, pendant trois heures, *la gélose reste stérile*.

29 octobre. Une mouche est mise sur culture de *Shiga*. Mise sur gélose le 30; culture abondante de *B. Shiga*. Les excréments de cette mouche sont ensemencés le 3 novembre et donnent une culture abondante de *B. Shiga*. Il en est de même du liquide régurgité. Remise sur gélose inclinée le 5; *culture abondante de Shiga*, idem le 10.

2 novembre. Quatre mouches sont mises sur une culture de *Shiga* pendant deux heures; le 5 une de ces mouches est mise sur gélose : une colonie de *Shiga*. Recueillie dans un ballon neuf et remise sur gélose le 17, la gélose reste stérile; il en est de même le 23 et le 26. Les trois autres mouches de cette expérience sont changées de ballon tous les deux jours; elles sont mises sur gélose le 17 : *la gélose reste stérile*; idem le 19; recueillies dans du bouillon le 20, *le bouillon reste stérile*.

Expériences avec la *bactéridie charbonneuse*.

2 décembre. Deux mouches sont contaminées de charbon sporulé; mises sur gélose le 4, elles donnent une culture abondante de bactéridies. Elles sont ensuite passées dans des ballons neufs tous les deux jours et remises sur gélose le 14; *la gélose reste stérile*. Les mouches sont recueillies dans du bouillon le 15; *le bouillon reste stérile*.

Expériences avec le *B. tuberculeux*.

Une seule expérience a été faite. Deux mouches ont été mises le 3 novembre dans un ballon contenant du coton imbibé de culture, en milieu de Besredka, de *B. tuberculeux* bovin. Le 5, elles sont transportées dans un ballon contenant du lait et de l'eau. Le 9, les mouches sont broyées dans 1 cmc 5 d'eau physiologique, 0 cmc 25 de cette émulsion est injecté dans la chambre antérieure de l'œil droit du lapin 43 F. Le 23 décembre, ce lapin ne présente rien d'anormal.

On voit, par ces expériences, que les mouches domestiques contaminées par certains germes pathogènes (le *B. typhique* et le *B. de Shiga*, notamment) et gardées ensuite dans des ballons, peuvent rester infectantes pendant des périodes assez longues (vingt-deux jours dans une des expériences). Toutefois, lorsqu'on se rapproche davantage des conditions réalisées dans la pratique, en transportant les mouches, à intervalles rapprochés, dans des récipients neufs, *elles se débarrassent rapidement (en 8-10 jours) des germes infectants*. Cette *auto-stérilisation* paraît être le résultat de facteurs purement mécaniques : les bactéries éliminées avec les déjections et le liquide régurgité sont, en effet, parfaitement vivantes, et d'autre part, la stérilisation se produit pour des formes aussi résistantes que le charbon sporulé.

On tiendra utilement compte de ces faits, lorsqu'il s'agira de fixer le rôle des mouches dans la dissémination des divers agents pathogènes. Là où ce rôle semble être établi, la notion de l'*auto-stérilisation* des mouches permettra de préciser les mesures prophylactiques.

SUR UN MICROBE PATHOGENE ISOLÉ AU COURS D'UNE FIÈVRE DE CAUSE INCONNUE EN COCHINCHINE

(ÉTUDE CLINIQUE ET EXPÉRIMENTALE)

par P. NOEL BERNARD.

INTRODUCTION

L'étude expérimentale qui fait l'objet de ce travail a pour point de départ l'isolement d'un microbe pathogène, dans le sang de l'homme, au cours de recherches faites à Saïgon sur les fièvres de causes indéterminées.

Ces fièvres, dites climatiques, sont désignées en Indochine sous le nom de « pseudo-dengue des mers de Chine et des Philippines », « fièvre des cinq jours », « fièvres des sept jours », « fièvre des ports de l'Inde et de la Chine ».

Ce microbe, auquel la production d'une spore confère une résistance considérable dans le milieu extérieur, est très répandu dans la nature.

Le fait qu'il est isolé du sang de l'homme dans certains états fébriles ne suffit à prouver ni son rôle pathogène ni sa spécificité. Il pourrait être considéré, soit comme un germe associé à un germe pathogène inconnu, filtrant ou non filtrant, soit comme un microbe saprophyte susceptible d'apparaître dans des états pathologiques divers.

Mais il produit, chez le porcelet, une maladie expérimentale toxi-infectieuse, transmissible par les aliments, à point de départ gastro-intestinal, qui ne saurait être confondue avec aucun autre état pathologique connu de cet animal. Cette maladie présente des formes bénignes et moyennes remarquables par leurs symptômes nerveux et gastro-intestinaux et superposables à la maladie humaine. Dans ces formes graves,

elle entraîne tantôt la mort, tantôt la guérison accompagnée de séquelles d'atrophie musculaire incurables et progressives.

Ce premier mémoire ne tend à affirmer ni l'existence d'un agent pathogène correspondant à une maladie climatique antérieurement définie par la clinique, ni la spécificité du microbe isolé vis-à-vis de la maladie humaine décrite. Ces questions ne sont pas définitivement résolues. La conclusion reste subordonnée à une étude plus prolongée et plus étendue.

Cet exposé (1) se borne à présenter les caractères du microbe, les symptômes de la maladie au cours de laquelle il a été isolé, les données fournies par l'expérimentation sur les animaux, et la discussion des résultats obtenus.

PREMIÈRE PARTIE

CARACTÈRES DU MICROBE

A. — Morphologie

Le microbe se présente au microscope, à l'état frais, sous plusieurs aspects différents. Dans aucun cas il n'a été possible de l'observer par examen direct du sang des malades ou des animaux en expérience.

On le retrouve aisément dans les frottis d'organes des animaux infectés, toujours sous la forme bacillaire. Dans les cultures, il apparaît sous ses divers états : 1° bâtonnet mobile ou bâtonnet immobile, en chaînettes, clair en son milieu, les deux extrémités plus sombres, en forme de navette ; 2° longs filaments flexueux, onduleux, souvent enchevêtrés ; 3° spores ovoïdes.

(1) Ce travail a pu être poursuivi grâce au concours du Dr Lalung Bonnaire, directeur de l'hôpital indigène de Cochinchine, qui a collaboré quotidiennement à la sélection et à l'observation des malades, du Dr Ledoux, directeur de l'hôpital de Choquan, qui m'a donné les plus grandes facilités de recherches, des Dr Roton, Marque, médecins traitants de l'hôpital militaire de Saïgon, du Dr G. Montel, médecin de la clinique municipale de Saïgon, des Dr Flèche et Goéré, médecins de la marine, MM. Lu et Cuong, médecins annamites en service dans les hôpitaux de Choquan et Cholon.

Le Dr Bablet, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Saïgon, a bien voulu assurer le travail très considérable des recherches anatomo-pathologiques.

M. Lelouet, chef du service vétérinaire à l'Institut Pasteur de Saïgon, m'a apporté l'aide de sa grande expérience des maladies animales en Indochine.

1° FORME BACILLAIRE. — Sous sa forme bacillaire (fig. 1), c'est un bâtonnet droit, à bouts arrondis, flexible, homogène, se déplaçant avec une allure tortueuse et exécutant des mouvements de pirouette. Tantôt libre, tantôt en chaînettes de deux ou trois articles.

Après quelques heures de culture, les bâtonnets s'immobilisent. Ils paraissent clairs en leur milieu, les deux extrémités plus sombres. L'espace clair correspond à la spore médiane



FIG. 1. — Culture de douze heures en bouillon.

en formation. Dans les tissus vivants, le parasite ne donne jamais de spores et se reproduit exclusivement par scissiparité.

Coloration. — Il se colore par toutes les couleurs basiques d'aniline, plus nettement avec la fuschine phéniquée diluée. Il prend le Gram, qui constitue le colorant de choix.

Après coloration, il a l'aspect d'un bâtonnet à bouts arrondis. Provenant d'une culture sur gélose de six à dix-huit heures et coloré par le Gram, il mesure de 3 μ . 5 à 4 μ de longueur sur 1 μ . 5 de largeur. En voie de sporulation, il se présente sous la forme d'une navette, les deux extrémités fortement colorées, la partie médiane incolore.

2° FORME FILAMENTEUSE. — Dans les cultures, et en particulier dans les cultures en bouillon, après vingt-quatre heures, apparaissent des chaînettes de bacilles, filaments très longs, flexueux, souvent enchevêtrés comme des écheveaux de fil. Ils sont immobiles. La coloration est la même que pour la forme bacillaire.

3° SPORES. — Avec une rapidité variable suivant le milieu de culture on voit, peu d'heures après l'ensemencement, appa-

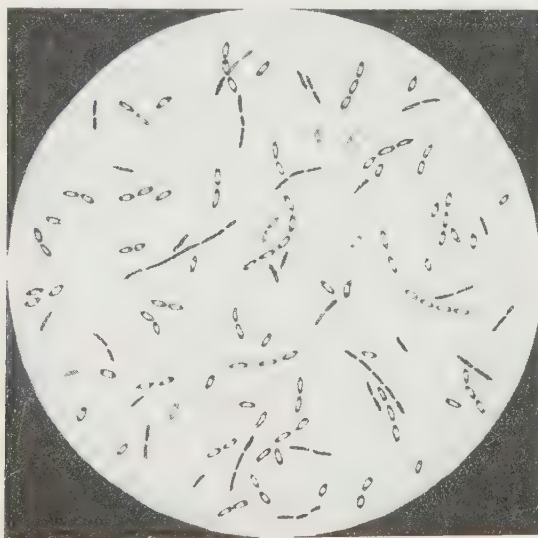


FIG. 2. — Culture de trente-six heures en bouillon; formation des spores.

raître au centre du bâtonnet un espace ovoïde réfringent qui contraste nettement avec les bouts nettement colorés (fig. 2). C'est la spore en formation. Bientôt le protoplasma se désagrège en fines granulations et la spore ovoïde est mise en liberté (fig. 3). Elle mesure alors $2\ \mu$ 5 de long sur $1\ \mu$ de large. Dans les cultures vieilles de plusieurs jours, on constate sur les longs filaments que tous les bâtonnets ne donnent pas de spores. Un certain nombre de spores germent, ce qui permet d'observer sur une même préparation toutes les formes d'évolution du microbe.

Les spores se colorent bien par le Ziehl-bleu de méthylène, en employant l'alcool absolu comme décolorant.

4° CILS. — Chaque bâtonnet possède 8 à 16 cils flexueux (fig. 4) de 8 à 10 μ de longueur, présentant plusieurs ondulations. Les cils sont répandus sur toute la surface du corps microbien.

5° FORME D'INVOLUTION. — Dans les hémocultures, en présence du sérum d'animaux préparés, le parasite présente des formes involutives. Les bâtonnets s'amincissent, s'effritent, prennent



FIG. 3. — Culture de cinq jours en bouillon; spores.

l'aspect dendritique, répandent autour d'eux de fines granulations qui se colorent par le Gram. Ils sont souvent agglutinés, en amas indistincts, finement dentelés.

B. — Caractères de culture.

1° CONDITIONS DE CULTURES. — Ce bacille est essentiellement aérobic. La température optima de culture est entre 33° et 38°. Il pousse dans les milieux neutres, légèrement acides ou alcalins. Le milieu couramment employé est le bouillon Martin.

2° BOUILLON. — Au bout de quelques heures, apparaît un

trouble léger, puis se forme un voile blanc, non plissé, fragile, qui se brise et tombe en fragments au fond du tube à la moindre agitation. Le voile s'étend parfois aux parois du tube de verre.

3° GÉLATINE. — Par piqûre, en glacière, entre 5° et 15°, quelques rares colonies se forment en profondeur, la surface se recouvre d'une membrane épaisse. La gélatine se liquéfie



FIG. 4. — Cils.

Bacillus asthenogenes. Gross. = 1/1.200.

en surface; la liquéfaction gagne progressivement vers la profondeur.

4° GÉLOSE. — Sur gélose, après quelques heures, il se forme un enduit crémeux, gras, blanchâtre, avec voile sur l'eau de condensation.

5° PLAQUES DE GÉLOSE. — Les colonies isolées sont rondes, hérissées de fins tractus filamenteux qui leur donnent un aspect madréporique.

6° GÉLOSE DE SABOURAUD. — Aspect analogue aux cultures sur gélose.

7° POMME DE TERRE. — Il se produit un enduit crémeux, blanchâtre.

8° LAIT. — De vingt-quatre à soixante-douze heures, formation de trois couches, masse crémeuse en surface, liquide citrin et trouble au milieu, dépôt granuleux au fond du tube.

C. — Propriétés biologiques.

1° RÉACTIONS BIOCHIMIQUES. — En bouillon sucré carbonaté, en gélose profonde sucrée, ce microbe ne donne de gaz avec aucun sucre.

Par piqûre, sur gélose sucrée tournesolée, il fait virer au rouge les géloses maltosée, saccharosée, glucosée, lévulosée, dextrinée, et fait virer au rose la gélose galactosée. Il reste sans action sur les géloses lactosée, dulcité, raffinée. Toutefois, après plusieurs passages sur gélose, l'action sur les sucres ne tarde pas à être moins régulière.

En milieu bouillon sang, il provoque l'hémolyse des globules rouges. L'opacité du mélange des globules rouges et du bouillon légèrement alcalin disparaît, le liquide est clarifié, il prend l'apparence d'un vin de porto filtré qui ne se trouble plus par agitation, comme si la masse sanguine avait été dissoute. Après deux ou trois jours, le milieu revêt l'aspect d'un vin de madère brunâtre, et il se forme un dépôt de même teinte. Le bacille ne noircit pas la gélose en plomb. Il ne produit pas d'indol.

2° VITALITÉ. — Il donne une spore très résistante aux agents de destructions et, en particulier, à la chaleur.

Il pousse à 45°. Une culture en bouillon, chauffée à 100° pendant cinq minutes, n'est pas stérilisée; quelques gouttes de cette culture, portées dans un tube de bouillon, donnent une nouvelle culture caractéristique. A 120° la stérilisation est constamment obtenue.

Les spores, mélangées à la terre contenue dans les sacs de riz (1) destiné à l'alimentation, conservent leur vitalité pendant plusieurs mois.

(1) Tous les échantillons de riz et de paddy (riz non décortiqué), prélevés chez les petits détaillants de Saïgon et dans la campagne chez les rizicul-

Ensemencé dans une série de tubes contenant des doses croissantes d'acide chlorhydrique d'une part, de lessive de soude d'autre part, il donne une culture caractéristique en vingt-quatre heures jusqu'au tube contenant 0 gr. 438 d'acide chlorhydrique par litre ; en soixante-douze heures jusqu'au tube contenant 0 gr. 546 d'acide par litre ; en vingt-quatre heures, jusqu'au tube contenant 0 gr. 87 de lessive de soude 30° Beaumé, exprimé en carbonate de soude (1).

La bile est pour lui un milieu défavorable ; on n'obtient jamais d'hémoculture en bile avec le sang des malades qui cultive en quelques heures en bouillon lait. L'ensemencement d'un échantillon, bien adapté aux milieux de culture usuels, donne une culture en bile retardée en quarante-huit à soixante-douze heures. Un grand nombre de bacilles paraissent granuleux, en voie de bactériolyse. La culture revêt néanmoins, en quelques jours, l'aspect caractéristique avec son voile friable de surface. Le microbe s'est adapté au milieu.

3° VIRULENCE ET TOXICITÉ. — Les germes isolés du riz ont transmis la maladie expérimentale au porcelet. Les souches prises parmi les cas cliniques de gravité diverse ont manifesté une virulence sensiblement égale. Même remarque au point de vue de la toxicité. La spore fixe la virulence et le pouvoir toxi-

teurs, ont permis d'obtenir l'isolement du microbe. Ce germe, très répandu dans la nature, trouve donc dans le milieu chaud et humide des rizières des conditions favorables à son développement.

Si, prenant un échantillon quelconque de riz de Cochinchine, on fait deux parts, l'une maintenue telle quelle, l'autre cuite à la mode annamite (coction dans l'eau portée pendant quinze minutes à l'ébullition) et si onensemence ces deux parts dans deux séries de tubes, on observe le fait suivant : le riz non cuit donne une culture très impure de germes divers contenant des bacilles répondant aux caractères du microbe qui nous occupe ; le riz cuit à la mode annamite donne une culture à peu près pure du même microbe, et même parfois tout à fait pure. Très fréquemment est associé un petit microcoque ne prenant pas le Gram, dont il conviendra de poursuivre l'observation. Le chauffage du riz en quinze minutes a donc opéré une sorte d'isolement du bacille qui, après refroidissement du riz, pourra trouver des conditions favorables à sa multiplication ou tout au moins à sa conservation.

(1) La résistance du microbe à l'acidité et à l'alcalinité du milieu lui permettra de survivre dans le riz mélangé aux condiments et aux sauces de la cuisine indigène. L'acidité du suc gastrique normal étant de 1 gramme à 1 gr. 50 par litre, on peut admettre que, dans certains états fonctionnels ou même dans la masse du bol alimentaire, l'estomac peut présenter, au point de vue de l'acidité, des conditions susceptibles de ne pas gêner le développement de ce microbe.

gène. L'étude de la maladie expérimentale a été poursuivie avec les mêmes échantillons dont le vieillissement s'est accentué depuis quinze jours jusqu'à dix mois. Les réactions des animaux sensibles ont été identiques.

D. — Toxine.

Si on ensemence en bouillon Martin une série de boîtes de Roux, placées à plat pour avoir la plus large surface d'aération, avec une culture de seize heures du bacille, le filtrat de la culture ne présente aucun pouvoir toxigène appréciable pendant les trois ou quatre premiers jours. Cette toxicité apparaît vers le sixième jour et s'accroît jusqu'au quinzième jour.

Mais on obtient une toxine de valeur égale ou supérieure en employant la méthode de Besredka pour la préparation des endotoxines (Besredka. Ces *Annales* 1904. *Revue générale du Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1916).

Cette toxine est active sur le porcelet, qui accuse les mêmes troubles que sous l'action des microbes vivants, à un moindre degré sur le lapin, la souris.

Les effets de la toxine seront exposés au chapitre de la maladie expérimentale.

E. — Détermination.

Le bacille qui vient d'être décrit présente avec *Bacillus megatherium* (de Bary) des caractères cultureux et biochimiques communs.

Cependant, tandis que *Bacillus megatherium* ne modifie pas le petit-lait tournesolé et le bouillon au rouge neutre, le premier décolore en vingt-quatre heures le petit-lait tournesolé qui reprend en trois jours sa teinte initiale et produit le caméléonage du rouge neutre.

D'après H. Vincent (ces *Annales* 1898), *Bacillus megatherium*, microbe non pathogène très répandu dans la nature, est inoffensif pour les animaux de laboratoire, même par association de microbes favorisants, par affaiblissement préalable de l'animal infecté, par traumatisme de la région inoculée, par injection massive de cultures.

Il peut devenir pathogène par passages en sacs de collodion dans le péritoine du lapin, et tuer, par septicémie suraiguë, la souris et le lapin. L'apparition de la virulence et de la toxicité s'accompagne d'un changement manifeste dans les caractères cultureux : à l'état normal *Bacillus megatherium* donne en bouillon un voile assez épais, bordé d'une collerette, le bouillon

sous-jacent restant presque clair et renfermant quelques grumeaux visibles par agitation; au quatrième passage en sac de collodion, la culture en bouillon donne un trouble abondant et uniforme avec ondes chatoyantes, sans voile ni collerette. Les attributs pathogènes ne se conservent que par la culture en sac. Abandonné à lui-même et réensemencé à l'air, il perd en trois mois sa virulence et sa toxicité et ne les reprend que par trois passages en sac.

Le bacille qui nous occupe est pathogène pour le porcelet, le lapin, la souris. Les passages sur gélose ordinaire pendant un an n'atténuent pas d'une manière appréciable sa virulence et sa toxicité. L'aspect des cultures est la même au sortir de l'organisme infecté et après cultures à l'air libre sur milieux usuels pendant de longs mois, et cet aspect est analogue à celui des cultures de *Bacillus megatherium* non pathogène.

En admettant même que ce microbe pathogène ait pour origine un *Bacillus megatherium*, il a acquis des caractères propres assez différenciés pour constituer une espèce différente; je proposerai de le désigner sous le nom de *Bacillus asthenogenes*, nom qui indique un des caractères essentiels de son action pathogène.

DEUXIÈME PARTIE

MALADIE NATURELLE DE L'HOMME

212 hémocultures ont été effectuées, à l'Institut Pasteur de Saïgon, du 15 juin au 1^{er} novembre 1919, au cours de fièvres continues, étiquetées sous des noms différents, selon le symptôme dominant. *Bacillus asthenogenes* a été isolé 92 fois, soit 61 fois sur des indigènes adultes et 31 fois sur des Européens.

L'isolement de ce bacille conduit à dégager des cas particuliers la symptomatologie générale des états fébriles dans lesquels il a été retrouvé.

A. — Symptomatologie générale.

1^o DESCRIPTION CLINIQUE. — Le tableau clinique n'est pas immuable; mais, si l'intensité relative de certains symptômes est variable, il est facile de reconnaître l'existence de signes constants.

Nous prendrons comme type une forme de gravité moyenne évoluant chez l'adulte.

Lorsque le sujet entre à l'hôpital, il est malade depuis plu-

sieurs jours. Il dit avoir présenté un état fébrile plus ou moins accentué. Il se détermine à réclamer des soins, en raison de la persistance de la fièvre et de l'insomnie, d'une courbature et d'une fatigue générales très pénibles, d'une répugnance très vive pour toute alimentation, même liquide, et d'une constipation opiniâtre.

Les phénomènes nerveux dominant. L'expression d'accablement, la prostration, le facies typhique, font penser aussitôt à un état infectieux des plus graves.

Le malade prend parfois une attitude figée, presque contracturée. Le moindre mouvement est douloureux, surtout au niveau de la nuque, des lombes et des membres inférieurs. Il ne peut pas se mouvoir, s'asseoir dans son lit, mettre les pieds à terre. Un examen rapide montre que ces douleurs, comparables à la meurtrissure de contusions larges et profondes, ne sont pas articulaires et qu'elles intéressent uniquement les masses musculaires. Elles sont spontanées, la pression les exagère. Elles n'ont pas apparu d'une façon foudroyante aux premières heures de la maladie. Elles ont été précédées d'une sensation de courbature qui accompagnait la poussée fébrile et qui s'est rapidement accentuée.

En même temps, le malade accuse un affaissement total de ses forces, une hypotonicité musculaire, une asthénie qui persiste et s'aggrave même après la disparition des douleurs. Il est anxieux, et se considère comme mortellement atteint.

L'insomnie dure depuis deux à trois jours. A l'état de veille succède parfois une vague somnolence traversée de cauchemars, sorte de délire onirique qui accompagne la période fébrile. Pas de délire proprement dit.

La céphalée est vive, gravative, non lancinante.

La langue est saburrale, blanche ou jaunâtre, sèche en son milieu, rouge sur les bords, comme élargie, marquée d'encoches dentaires très nettes. Un enduit blanchâtre recouvre les gencives au pourtour des dents. Les piliers et le voile du palais présentent un énanthème plus ou moins fugace.

L'état gastro-intestinal attire l'attention des malades surtout par l'inappétence absolue et la constipation qui est la règle.

Pas de gargouillement de la fosse iliaque droite. La palpation de l'abdomen ne révèle aucun point douloureux.

Le foie et la rate ne sont pas augmentés de volume.

Du côté de l'appareil urinaire, on observe de l'oligurie à la période aiguë, la présence de traces d'albumine et une diminution des chlorures qui peuvent descendre à 0 gr. 20 par litre.

Au point de vue circulatoire, aucun trouble net. Pas de dirotisme du pouls, qui bat entre 80 et 100 pulsations à la minute pendant les poussées fébriles.

Le malade n'attire pas l'attention sur les symptômes pulmonaires. Parfois cependant il a une petite toux sèche. A l'auscultation, dans presque tous les cas, on perçoit de petits râles humides, fugaces. Pas de souffle; rien à la percussion.

La fièvre fournit le caractère constant de n'être pas influencée par la médication quinique, de ne pas présenter de stades nettement alternés de frissons, de chaleur, et de sueur. Elle dure en moyenne de cinq à sept jours. Il arrive fréquemment que les malades sont observés au dernier jour de l'hyperthermie, au moment où l'asthénie est le plus accentuée, mais où la convalescence va commencer. Presque toujours, ils entrent à l'hôpital après trois ou quatre jours de fièvre. Par suite, il est difficile de reconstituer la courbe fébrile exacte et complète. Dans les cas les plus rebelles la fièvre dure un ou deux septénaires.

On peut distinguer plusieurs types fébriles : 1° la température atteint 39° ou 40° au moment du premier examen; elle tombe à 38°, 37°5 le jour suivant pour remonter à 37°5, 39° pendant un ou deux jours, et revenir à la normale en vingt-quatre heures; 2° la température reste au-dessus de 38°, le plus fréquemment entre 39° et 40° pendant cinq à six jours, pour redescendre en quarante-huit heures jusqu'à la normale; 3° la température, après avoir affecté une des deux premières formes, se prolonge au delà du premier septénaire en donnant des oscillations accentuées; 4° dans les formes les plus bénignes, le malade porte sa fièvre légère sur pieds, et le diagnostic est fait d'une façon fortuite par le laboratoire.

Lorsqu'il est possible de prendre la température 4 fois par jour, on constate qu'elle est déjà élevée le matin à 7 heures, atteint son maximum entre midi et 16 heures, et redescend vers 17 heures, tout en restant supérieure à ce moment à la température du matin.

A la fin de la période fébrile, au moment de la chute de la température, apparaît une éruption rubéolique d'intensité et de durée très variables, tantôt rougeur fugace intéressant le thorax et les épaules et disparaissant en quelques heures, tantôt érythème envahissant la face et le corps entier, particulièrement marqué sur le thorax, aux fesses et aux cuisses et s'effaçant progressivement en deux ou trois jours.

Cet érythème est caractérisé par une rougeur vive et uniforme résultant de la confluence des points hyperhémiques miliaires, acuminés, perceptibles au toucher. Sur les points les plus confluent, on distingue les points rouges, bien individualisés, séparés par des espaces de peau saine.

Les conjonctivites palpébrables et oculaires sont congestionnées, humides. Il n'y a pas de photophobie.

Au moment de la chute de la température, ou quelques heures plus tard, le malade éprouve une sédation brusque, des phénomènes de courbature et de douleurs musculaires. Son visage angoissé, son aspect typhique, impressionnants la veille au soir encore, ont fait place le lendemain à une expression de détente. En même temps les urines deviennent de plus en plus abondantes, l'albumine disparaît, le taux des chlorures restant très faible.

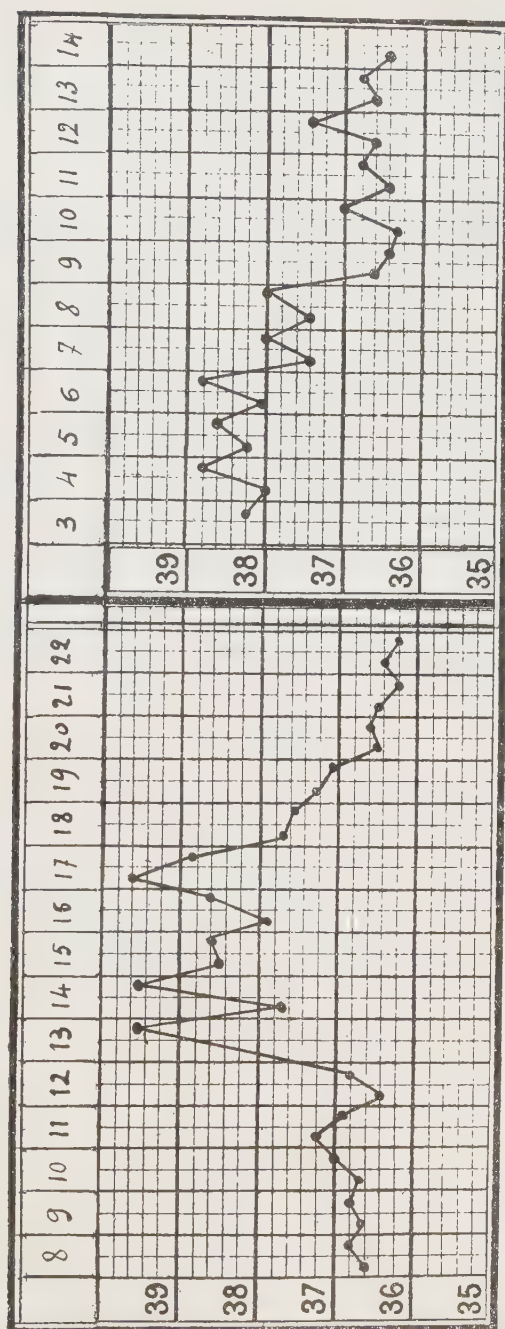
Mais si la myalgie, la difficulté des mouvements ont à peu près disparu, une asthénie profonde persiste qui se prolonge plusieurs jours.

Dans certains cas graves, le sujet, qui ne souffre plus en s'asseyant sur son lit, ne peut se tenir debout. Il fléchit sur ses jambes. Les réflexes rotuliens sont diminués. On constate du ballotement du pied. Quelques jours plus tard, il se tient debout et parvient à se déplacer en traînant les jambes, en butant avec la pointe du pied. L'amélioration s'accroît. Il marche aisément, mais il ne peut gravir les marches d'escalier qu'en prenant appui sur ses deux bras.

Enfin ces phénomènes d'asthénie musculaire s'atténuent rapidement et la guérison totale survient.

Trois décès ont été observés dans des cas où le bacille avait été isolé de la circulation générale. Il s'agissait de deux prisonniers annamites très émaciés et d'un militaire français atteint de syphilis grave ancienne. En admettant que la mort soit due

FIGURE 3.



II

I

Maladie humaine : I, type de la fièvre en plateau, forme de gravité moyenne; II, type de forme bénigne.

au germe infectieux isolé, elle resterait une terminaison exceptionnelle de la maladie.

Les formes cliniques peuvent être provisoirement classées d'une façon schématique, sous trois types :

1° Les formes moyennes répondant à la symptomatologie qui vient d'être décrite, suivies de guérison ;

2° Les formes graves se terminant exceptionnellement par la mort, à la fin de la période fébrile ; dans des cas, la crise finale peut être marquée par une hyperthermie atteignant 42° à 43° ;

3° Les formes bénignes, attribuées à un embarras gastrique bénin que le malade porte sur pieds.

Nous verrons plus loin qu'il est permis de se demander, en s'appuyant sur l'étude de la maladie expérimentale du porcelet, s'il n'existerait pas chez l'indigène des formes rebelles ou incurables des troubles de la motricité, consécutifs à des poussées fébriles, passées inaperçues et classées, actuellement dans des groupes de maladies absolument distincts des fièvres climatiques. Il est intéressant de poser la question dans le programme de recherches ultérieures.

2° HÉMATOLOGIE.

Pour l'interprétation des résultats, il faut tenir compte de ce que le malade se fait rarement hospitaliser au début de l'affection. Les premiers

Malades en traitement à l'hôpital (hémocultures positives).

	Petits lymphocytes	Gros lymphocytes	Polymorphes amphophiles	Polymorphes acidophiles	Myélocytes cellules d'initiation	
Formule normale. .	20	5	69	5	1	Moyenne de 10 examens. 5 ^e -7 ^e jour de ma- ladie.
A l'entrée à l'hôpital.	1	34	53	10	1	
2 jours après	10	20	56	10	4	
5 — —	1	30,5	55	9,5	4	
8 — —	1	37	51	5	6	
10 — —	1	23	59	10	7	
2 semaines après . .	»	28,5	59	8	4,5	
3 — —	»	39	51	9	1	

examens de sang ne sont faits que vers le cinquième jour de la maladie à la période d'état.

La leucopénie est accusée. Les polymorphes amphophiles restent un peu au-dessous de leur taux normal pendant toute la durée de la maladie. Les petits lymphocytes disparaissent de bonne heure; les grandes formes mononucléées se multiplient, et, dans les formes prolongées, la mononucléose est nette au déclin de la maladie. L'acidophilie et la myélocytose sont précoces, présentent leur maximum vers le dixième jour et persistent très longtemps. Le parallélisme de variations de ces deux éléments, myélocytes et acidophiles, est remarquable et semble un des meilleurs caractères spécifiques de l'hématologie de la maladie.

3° ANATOMIE PATHOLOGIQUE. — Deux autopsies de prisonniers peuvent seules être retenues sous cette réserve qu'elles ont eu lieu huit à dix heures après la mort. Elles ont donné lieu à des constatations identiques dans les deux cas.

Pas d'épanchement dans la plèvre. Poumons congestionnés surnageant dans l'eau en tout ou par fragments. Poids normal.

Épanchement péricardique peu abondant, d'aspect citrin. Cavités cardiaques pleines de caillots. Muscle cardiaque mou et flasque.

Pas d'épanchement dans le péritoine. Rate normale. Foie normal. Reins et capsules surrénales congestionnés. Estomac vide d'apparence normale.

La muqueuse de l'intestin grêle présente au niveau du duodénum et de la partie du jéjunum qui lui fait suite une congestion légère avec quelques points de suffusion sanguine, sans gonflement ni ulcération. Gros intestin normal contenant des matières durcies. Rien de particulier du côté des ganglions mésentériques et par ailleurs.

Examen bactériologique des deux cadavres :

Le bacille qui avait été isolé par hémoculture chez les deux sujets dans la dernière semaine de la maladie, est retrouvé à l'état impur : 1° sur le premier cadavre, dans la sérosité pulmonaire, la rate et les reins, par frottis; dans les poumons, le foie, la rate, les reins, les capsules surrénales, par culture de la pulpe des organes, en bouillon-lait; 2° sur le deuxième cadavre, dans l'urine contenue dans la vessie distendue, à l'examen direct, dans les poumons par culture de la pulpe de ces organes.

Les germes isolés des cadavres présentent les caractères cultureux biochimiques des germes isolés du sang au cours de la maladie.

B. — Diagnostic clinique.

Au moment où le malade se présente à l'examen, il accuse les caractères d'un état infectieux grave. Le diagnostic différentiel doit être fait entre la fièvre qui vient d'être décrite, les fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes, les septicémies diverses et, notamment chez les jeunes accouchées la fièvre puerpérale, la dengue, le paludisme de première invasion et, dans les cas

les plus graves, l'accès pernicieux. Dans certains cas d'éruption confluente, on peut penser aux fièvres éruptives. Enfin, la symptomatologie doit être comparée aux caractères de la pseudo-dengue, de la fièvre des cinq et des sept jours, de la fièvre des ports d'Extrême-Orient et de l'Inde.

C. — Diagnostic microbiologique.

Le diagnostic microbiologique doit être poursuivi par la recherche du microbe :

1° Dans la circulation générale;

L'hémoculture en bouillon-lait, à parties égales, réalise les conditions les plus favorables.

2° Dans l'urine;

3° Dans la cavité buccale et le pharynx;

4° Dans les matières fécales;

Un fragment du volume d'un grain de riz est dilué dans 10 cent. cubes d'eau physiologique, la dilution est chauffée à 100° pendant dix minutes. Après refroidissement, quelques gouttes sont ensemencées par stries sur trois boîtes de Petri sans recharger la spatule. Après vingt-quatre heures, les colonies du bacille apparaissent nettement au milieu de quelques autres colonies microbiennes.

5° Par inoculation du sang des malades au porcelet.

2 à 5 cent. cubes de sang sont prélevés, selon la méthode habituelle, dans une veine du pli du coude, avec une seringue contenant de 1 à 2 cent. cubes de citrate de soude à 1 p. 100, et immédiatement injectés dans la masse musculaire de la cuisse d'un jeune porcelet de 3 à 4 kilogrammes, dont la peau a été soigneusement rasée, désinfectée à la teinture d'iode et à l'alcool à 90°. Le point de pénétration de l'aiguille est recouvert de collodion.

Vingt-quatre heures après, la région inoculée présente les signes d'une inflammation plus ou moins accentuée. Une ponction faite au moyen d'une seringue stérilisée, l'aspiration étant poursuivie depuis la profondeur du muscle jusque sous la peau, ramène de quelques gouttes à 2 cent. cubes de sérosité sanguinolente. Une partie de cette sérosité est ensemencée dans un ou plusieurs tubes de bouillon-lait; ce qui reste est étalé en frottis ou en goutte épaisse sur des lames neuves et soigneusement décapées à l'acide chlorhydrique.

L'examen de ces lames montre, en culture pure, la présence du bacille avec ses caractères morphologiques. Le tube bouillon-lait donne une culture pure abondante du même germe qui peut être identifié.

L'animal inoculé est tenu en observation. Trois cas peuvent se présenter : 1° accident local sans généralisation; 2° maladie expérimentale se terminant par la guérison; 3° maladie grave se terminant par la mort.

L'emploi du porcelet comme animal d'expérience ne peut être généralisé en raison de son prix élevé. Les essais pratiqués sur le lapin et le cobaye ont donné des résultats inconstants. La souris blanche est un animal de trop petite taille pour recevoir la quantité de sang susceptible de provoquer l'infection.

6° Par frottis de sang sur lames.

Cette recherche utile pour le diagnostic différentiel avec le paludisme, a toujours été négative pour *Bacillus asthenogenes*.

Séro-diagnostic :

L'application de la séro-réaction de F. Widal au diagnostic clinique n'a pu être réalisée jusqu'à ce jour en raison de l'agglutination spontanée des bacilles dans les tubes témoins.

La fixation du complément donne des résultats positifs dans le cas de formes graves et de longue durée.

La recherche du microbe dans les matières fécales et dans la bouche n'a pas de valeur clinique, ce microbe se trouvant en abondance dans le riz.

L'hémoculture ne donne pas de résultat constant. Nous verrons plus loin que, dans la maladie expérimentale, l'hémoculture pratiquée au moment même où l'animal va être sacrifié est négative, alors même que l'examen des viscères, par frottis, décèle, quelques minutes plus tard, la présence du germe infectieux dans le parenchyme des organes.

L'uroculture ne donne pas un résultat certain dans tous les cas.

La méthode véritablement utile et applicable en clinique doit être recherchée dans la mise au point d'un mode de séro-diagnostic.

D. — Classement de la maladie.

La bénignité habituelle des fièvres climatiques, qui contraste avec la violence des symptômes et la gravité apparente de la maladie, fait rejeter par les cliniciens les cas sérieux ou mortels dans les formes atypiques des pyrexies connues. Les autopsies sont très rares et pratiquées trop tardivement. Ces conditions rendent difficiles les recherches de laboratoire.

Pour arriver à faire des sections opportunes dans ce bloc des fièvres indéterminées, il convient de s'affranchir de la précoc-

cupation des divisions cliniques assez arbitraires qui ont été établies. L'étude des micro-organismes suspects isolés au cours de fièvres supposées climatiques, le groupement autour de chacun d'eux des faits cliniques et expérimentaux concordants, l'observation prolongée de ces mêmes faits dans des régions différentes, conduiront à sérier les types morbides mis en lumière et à établir dans quelle mesure les divisions actuelles répondent à la réalité.

L'ensemble des faits acquis permet de proposer pour la maladie décrite le nom de « fièvre asthéo-myalgique » qui résume ses caractéristiques principales. Ce nom provisoire est destiné à situer dans la nosologie locale, cette entité morbide, sans préjuger de la question de savoir si elle s'identifie avec une ou plusieurs maladies climatiques reconnues, ou si elle constitue un type fébrile méconnu.

TROISIÈME PARTIE

LA MALADIE EXPÉRIMENTALE

La maladie naturelle au cours de laquelle le bacille a été isolé n'a été observée que chez l'homme. Certains animaux peuvent contracter la maladie expérimentale.

A. — Animaux réceptifs et animaux réfractaires.

L'animal de choix est le porcelet. Il présente une sensibilité à l'infection telle qu'il reproduit dans ses traits essentiels la maladie naturelle de l'homme. Il contracte parfois une maladie beaucoup plus sévère que la maladie humaine. Son attitude et ses réactions permettent une analyse détaillée des symptômes.

La souris blanche succombe en quelques heures à l'injection sous-cutanée de cultures.

Le lapin est irrégulièrement sensible, il ne fournit que des symptômes assez frustes. A défaut de porcelets, il serait l'animal d'expérience le plus utile.

Le cobaye, très résistant, succombe parfois à l'ingestion par la voie gastrique.

Le singe macaque est réfractaire.

B. — Technique des inoculations.

1° NATURE DU MATÉRIEL D'INOCULATION.

Ont été utilisés : 1° les cultures en divers milieux; les cultures de douze à vingt-quatre heures, dans lesquelles les bacilles sont très mobiles, sont les plus recommandables. L'infection peut être obtenue avec les spores; 2° le sang de l'homme ou des animaux malades; 3° les organes d'animaux infectés; 4° la toxine.

2° VOIES D'INOCULATION.

La transmission de la maladie peut se faire par : 1° la voie buccale au moyen d'un repas infectant; 2° la voie gastrique, à la sonde œsophagienne; 3° la voie sous-cutanée ou intramusculaire; 4° la voie intraveineuse chez le lapin; 5° la voie péritonéale.

3° DOSES DU MATÉRIEL D'INOCULATION.

Pour les ingestions, culture en bouillon de dix-huit heures, 5 à 10 cent. cubes chez le porcelet; 1 à 2 cent. cubes chez le lapin; 1 cent. cube chez le cobaye; 0 c. c. 5 chez la souris. Pour les inoculations sous-cutanées ou intramusculaires de 1/20 de cent. cube à plusieurs cent. cubes chez le porcelet; 1 à 2 cent. cubes chez le lapin; 1/50 à 1/2 cent. cube chez la souris. Mêmes doses pour les injections intraveineuses chez le lapin.

C. — Maladie expérimentale du porcelet.

1° SYMPTOMATOLOGIE GÉNÉRALE CONSÉCUTIVE A TOUS LES MODES D'INOCULATION. — Quelle que soit la voie d'inoculation et les doses employées, quand la maladie expérimentale est déclarée, elle présente une symptomatologie particulière qui ne prête à aucune confusion avec les maladies naturelles connues de l'espèce porcine.

Les porcelets de 4 à 5 kilogrammes ont des formes arrondies, le poil lisse et brillant. Leur rachis présente une courbure à concavité inférieure très accentuée, c'est-à-dire une dépression marquée de la région dorso-lombaire. Ils sont voraces, gais, très mobiles. Leur température normale oscille entre 39° et 39°5.

Dès que la maladie se déclare, le porcelet devient triste. Son poil se hérisse (poil piqué). Il cherche à se dissimuler dans un coin de cage.

La fièvre apparaît, accompagnée de frissons musculaires

d'abord légers et espacés, puis plus violente et continue. Dans les formes graves, l'animal est agité de véritables secousses, profondes, prolongées, ininterrompues. Il pousse des grognements plaintifs. Il se couche, se relève, change de place, en proie à une agitation douloureuse, puis il s'allonge marquant l'appréhension d'être touché ou déplacé. Il ne dort plus. Il cesse de manger. Après quarante-huit heures ou plusieurs jours, l'animal prend, dans la position debout, une attitude caractéristique. La courbure concave du rachis dans la région dorso-lombaire est devenue convexe, le dos est arrondi au lieu d'être creusé (rein voussé). Les membres postérieurs légèrement fléchis sont fortement ramenés en avant sous l'abdomen, vers les membres antérieurs (position du rassemblelé); les cuisses en abduction par rapport au bassin, les jarrets rapprochés s'étayant l'un sur l'autre, les jambes divergeant, les pieds portés en dehors forment un triangle isocèle dont le sommet est marqué par la jonction des jarrets (jarrets clos). Les onglons sont écartés.

Cette attitude n'est liée à aucune paralysie ou parésie des membres postérieurs. Il semble qu'il y ait simplement asthénie musculaire du train postérieur. Si l'on essaie de le faire marcher ou courir, l'animal se déplace, les membres ramassés, soudant les articulations dont le jeu est réduit au minimum (reins soudés). Il fléchit brusquement après quelques pas. Cette démarche contraste avec l'allure dégagée, souple, élastique, des animaux sains témoins. Dans les cas d'asthénie les plus accentués, l'animal arrive à se déplacer en rampant sur le ventre, traînant, inertes, les membres postérieurs.

En trois ou quatre jours son embonpoint disparaît, les saillies osseuses s'accusent sous la peau; en moins d'une semaine il a le facies cachectique.

La durée de la maladie est variable. La mort ou la convalescence viennent entre le sixième et le quinzième jour. La mort est exceptionnelle. Quand elle se produit, la température, qui n'a cessé d'osciller entre 40° et 42°, baisse brusquement; le porcelet se couche sur le flanc pour ne plus se relever, et la fin survient rapidement.

Le plus souvent la fièvre fléchit, l'animal commence à s'alimenter.

En 24 heures son allure se modifie; le poil est plus lisse; la voracité naturelle, la vivacité des mouvements, la gaité repa-



I



II



III



IV

FIG. 6. — Attitude caractéristique du porcelet au cours de la maladie expérimentale : I, pendant la période aiguë; II, III, IV, à l'état chronique avec aggravation progressive.

raissent. La guérison peut survenir complète ou avec persistance de séquelles plus ou moins graves.

Dans le cas d'atteinte légère, le porcelet revient rapidement à la normale et reprend son embonpoint.

Dans les formes graves, malgré le retour de l'appétit et d'une activité plus grande, l'animal reste cachectique. Il conserve la

même attitude vicieuse (rein voussé, position du rassemblé, jarrets clos, reins soudés).

Dix porcelets atteints de cette forme grave ont été conservés plus de trois mois en observation, dans les conditions les plus favorables de repos et d'alimentation. Six d'entre eux ont présenté une légère amélioration des troubles fonctionnels de la station debout et de la marche. Les 4 autres sont restés cachectiques, leur attitude vicieuse s'est accentuée, tout leur système musculaire paraissant atrophié, en particulier les muscles des lombes et du train postérieur. La station debout est devenue de plus en plus difficile, l'animal se couchant quelques minutes après avoir été relevé, traînant son train postérieur sur le sol pour se déplacer. L'un d'entre eux a succombé après 4 mois, au dernier degré de la misère physiologique.

La constipation est la règle dans toutes les formes bénignes ou moyennes pendant toute la période fébrile. Elle cesse quand l'animal revient à la température normale, retrouve l'appétit et l'activité ordinaires.

Dans tous les cas mortels, après plusieurs jours de constipation, une diarrhée profuse, jaune clair, qui contraste avec la couleur vert foncé des fèces, s'établit pour continuer jusqu'à la mort. Elle caractérise les cas mortels à évolution rapide. L'anatomie pathologique montre qu'elle coïncide avec des lésions graves de l'intestin grêle, après infection par ingestion.

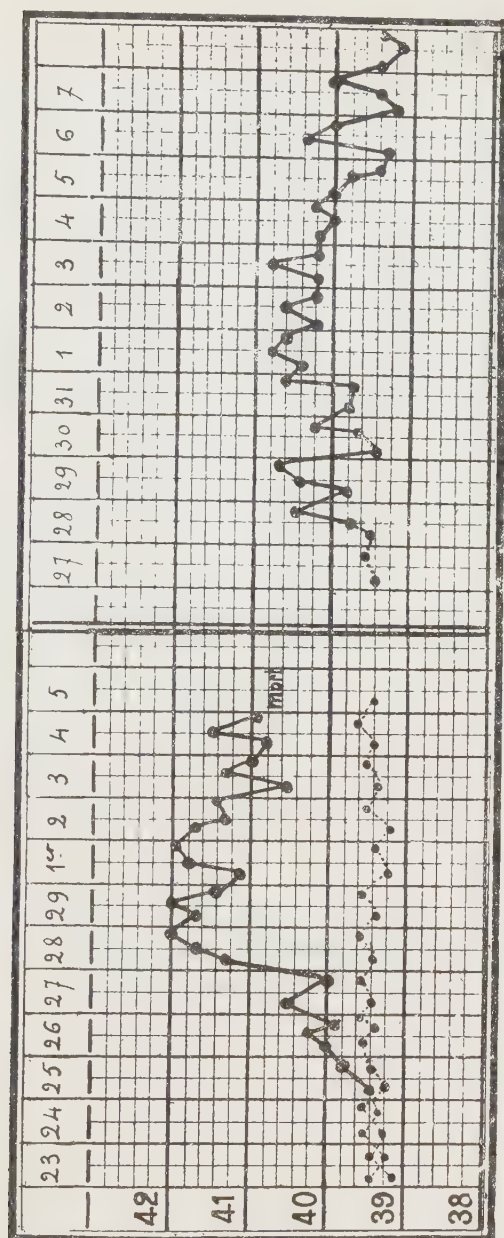
Aucun symptôme n'indique une lésion pulmonaire; ni toux, ni jetage. Cependant, à l'autopsie, tous les animaux présentent, dès les premières heures de l'infection, des points de suffusions sanguines, de petites hémorragies nodulaires.

Aucun symptôme cardiaque appréciable.

Les urines, rares pendant la période aiguë de la maladie, deviennent abondantes au moment de la sédation des symptômes. A l'autopsie, il est fréquent d'observer que la vessie est distendue et pleine de liquide légèrement trouble. L'analyse montre la présence d'albumine, la diminution accentuée des chlorures (moins de 0 gr. 20 par litre).

2° SYMPTOMATOLOGIE SPÉCIALE EN RELATION AVEC LA VOIE D'ACCÈS DU GERME INFECTIEUX. — La symptomatologie générale se reproduit d'une façon constante. L'intensité relative des symptômes

FIGURE 7.



III

IV

Maladie expérimentale du porclet : III, 1° la ligne pointillée indique le tracé thermométrique du porclet sain témoin ; 2° la ligne pleine indique le tracé thermométrique du porclet, inoculé par ingestion d'un repas infectant, à la date du 25, à 9 heures du matin. Forme mortelle ; IV, tracé thermométrique d'un porclet inoculé par ingestion d'un repas infectant à la date du 28, à 9 heures du matin.

varie suivant le degré de gravité de la maladie, quelle que soit la voie d'entrée du germe infectieux dans l'organisme.

Mais certains symptômes correspondent à la voie d'accès du microbe.

Symptômes locaux. — L'injection sous-cutanée ou intramusculaire de cultures pures ou de sang des malades donne une lésion locale très caractéristique. Elle consiste en un gonflement de la région inoculée, accompagné d'œdème, de rougeur et de chaleur. Cette inflammation varie d'étendue selon la dose injectée ou les réactions individuelles de l'animal. Elle peut se limiter à la surface d'une pièce de 5 francs. Parfois elle s'étend jusqu'au pied, d'une part, jusqu'à l'ombilic, de l'autre, l'inoculation étant faite à la partie interne de la cuisse. Dans aucun cas elle n'a donné lieu à une réaction des ganglions lymphatiques. Jamais elle n'a donné naissance à la production de pus.

A la section de la région injectée, on constate qu'il s'est formé sous la peau et dans le muscle un œdème gélatiniforme sanguinolent, d'où s'écoule une sérosité abondante, riche en germes inoculés. L'inflammation guérit en trois à cinq jours.

Par ingestion buccale, la pénétration du germe infectieux ne provoque aucun accident local, décelé par la clinique.

L'injection intrapéritonéale entraîne un état général grave dû à la péritonite et à l'intoxication massive par bactériolyse des bacilles. La symptomatologie générale se dégage ultérieurement par les séquelles caractéristiques quand la péritonite est en voie de guérison.

Fièvre. — Dans les cas d'injection sous-cutanée de doses fortes de cultures pures (1/2 cent. cube à 5 cent. cubes et plus) la maladie commence, quelques heures après l'inoculation, par une ascension thermique brusque et maxima de 40° à 41°5. Elle continue en plateau moins élevé pendant quatre à cinq jours, retombe à la normale et s'y maintient après quelques oscillations. Dans ces conditions, la fièvre, due à la lésion locale, à l'absorption de toxine au point d'inoculation, se confond avec la fièvre de la maladie générale. Elle fait corps avec elle. La période d'inoculation passe inaperçue.

Dans les cas d'injection sous-cutanée de doses faibles de culture pure (1/20^e de cent. cube), du sang des malades, d'ingestion buccale ou stomacale, une première ascension thermique se produit, avec oscillations, pendant quarante-huit heures, le

maximum étant entre 40° et 42°. Puis la température redescend sensiblement à la normale pendant trente-six ou quarante-huit heures. Elle remonte du quatrième au cinquième jour pour donner un plateau de cinq jours environ avec des maxima très variables, suivant les cas, de 40°6, 41° et 42° pendant plusieurs jours consécutifs.

Quand les doses ingérées sont très faibles, la première ascension thermique ne se produit pas, la maladie se déclare du quatrième au cinquième jour.

Cette période de quatre à cinq jours correspond à la période d'incubation de la maladie expérimentale.

3° ANATOMIE PATHOLOGIQUE MACROSCOPIQUE. — Deux cas à considérer : 1° lésions dans la phase aiguë de la maladie ; 2° lésions plusieurs mois après la guérison de la maladie aiguë, l'animal succombant aux séquelles chroniques.

Dans les deux cas, le cadavre est extrêmement maigre, émacié. Pas d'épanchement dans la plèvre, le péricarde, le péritoine. Cœur dilaté, mou, flasque, contenant des caillots.

Les poumons surnagent entièrement quand on les plonge dans l'eau. Dans les cas aigus, des foyers hémorragiques de quelques millimètres de diamètre font une tache noirâtre sur le fond rosé de la masse pulmonaire. Dans les cas chroniques, les taches violacées résultant de l'organisation des foyers hémorragiques persistent.

Le foie n'est pas augmenté de volume. Dans les cas aigus, il est congestionné et marqué de taches blanchâtres. Dans les cas chroniques il est jaunâtre avec le dessin lobulaire très accusé. A la coupe, il a l'aspect d'un foie gras, jaune pâle et très friable.

La rate paraît normale dans les deux cas.

Les reins et les capsules surrénales sont congestionnés.

La vessie est distendue et pleine d'urine trouble.

Les ganglions mésentériques constituent dans les cas aigus des masses rouges, très congestionnés ; dans les cas chroniques, de gros paquets très apparents en raison de la résorption des pelotons graisseux.

Rien de particulier dans l'aspect extérieur de l'estomac et du tube digestif dans les deux cas. Dans les cas aigus la muqueuse de l'estomac est normale, la muqueuse du duodénum, des segments antérieur et moyen de l'intestin grêle est congestionnée, un peu épaissie. A l'œil nu, on ne constate ni hémorragie, ni ulcérations. Dans les cas chroniques, la muqueuse a repris son aspect normal.

Dans les cas chroniques, l'état des muscles attire particulièrement l'attention. Ils présentent des altérations de la cachexie aqueuse des animaux : décoloration générale, infiltration de sérosité entre les plans musculaires et jusque dans la masse musculaire. La graisse a disparu pour être remplacée par un tissu cellulaire grisâtre et gorgé de sérosité. L'atrophie musculaire est générale, mais elle est accentuée surtout dans les membres postérieurs

et plus particulièrement dans les muscles adducteurs des cuisses. Le muscle psoas iliaque est réduit à un mince cordon mou et flasque.

4° HÉMATOLOGIE. — La maladie expérimentale du porcelet est caractérisée, au point de vue hématologique, par la leucopénie, une acidophilie importante et une myélocytose légère (myélocytes vrais et cellules d'irritation). Toutes deux sont précoces et tenaces. Peu de variations du taux des polymorphes amphophiles, du premier au cinquième jour, à partir duquel ces éléments diminuent progressivement jusqu'au déclin de la maladie. Les moyens et gros lymphocytes, au-dessous de leur chiffre normal jusqu'au cinquième jour, le dépassent ensuite. Quand l'animal résiste à l'infection, l'équilibre leucocytaire est rétabli au bout d'un mois.

Le tableau ci-dessous indique le détail de cette évolution.

Inoculation par voie digestive ou sous-cutanée.

	PORCE- LETS NEUFS 10 sujets	PORCELETS INOCULÉS (10 SUJETS)							
		après 24 h.	après 3 j.	après 5 j.	après 8 j.	après 10 j.	après 13 j.	après 16 j.	après 1 mois.
Moyens et gros lymphocytes.	56	45	38,5	52,5	52	61	65,5	51	54
Polymorphes amphophiles.	41	41,5	39,5	28,5	30,5	29,3	20,5	23	42
Polymorphes acidophiles.	3	11	20	16,5	16	9	14	18	3
Myélocytes et cellules d'irritation . . .	»	1,5	2	2,5	1,5	0,5	»	1	1

5° ANATOMIE ET HISTOLOGIE PATHOLOGIQUE. — *Inoculation par ingestion.* — L'inoculation par la voie digestive est le mode de contamination dont toutes les phases peuvent être exactement suivies.

Les lésions du tube digestif ont été étudiées chez des animaux sacrifiés respectivement quatre heures, vingt-quatre heures, et trois jours après le repas infectant, et sur un porcelet mort le neuvième jour.

1° Quatre heures après l'ingestion des cultures, on constate de l'hyperémie du duodénum et de l'intestin grêle sur plusieurs points. A ce niveau, le tissu cellulaire des villosités s'est enrichi de quelques lymphocytes et polymorphes acidophiles. On trouve également des macrophages chargés de pigment ocre. Les capillaires sont dilatés. Le tissu conjonctif périglandulaire participe aussi à la réaction et contient des leucocytes déjà nombreux. L'épithélium paraît intact.

Les coupes de la paroi stomacale ne révèlent rien de particulier. Les ganglions mésentériques ne sont pas augmentés de volume.

2° Vingt-quatre heures après l'ingestion, la réaction vasculaire et lymphoïde s'est accusée. On note de petites hémorragies de la sous-muqueuse. Lymphocytes et acidophiles se rencontrent dans les différentes tuniques, même au niveau de la muqueuse où ils s'insinuent entre les cellules épithéliales. Les follicules clos hypertrophiés sont le siège d'une prolifération active. L'épithélium glandulaire réagit également sur certains points.

Les ganglions mésentériques sont volumineux. On assiste à un début d'hémogénéisation. Pas d'hématies extravasées. Les polymorphes acidophiles sont nombreux. Leur dimension, la forme régulière et la petite taille de leurs granulations les distinguent nettement des leucocytes hématophages très rares à ce stade de l'ingestion.

3° Au troisième jour après l'inoculation, l'intestin grêle est congestionné sur presque toute son étendue. Le mésentère est injecté, les ganglions très gros. Au microscope, on constate une prolifération épithéliale et folliculaire extrêmement active, des hémorragies diffuses, de l'hématophagie et une infiltration lymphoïde intense.

Les ganglions mésentériques montrent des capillaires engorgés, dilatés, et de nombreux acidophiles. Les centres germinatifs s'effacent dans l'hyperplasie totale de l'organe.

4° Neuf jours après l'inoculation (cas mortel) la paroi intestinale apparaît épaissie à l'œil nu. Cet épaississement est dû à l'infiltration des éléments lymphoïdes (lymphocytes, acidophiles, macrophages et quelques labrocytes) et à l'hypertrophie des follicules clos. L'épithélium présente des solutions à continuité, véritables ulcérations, et de nombreux points de nécrose : noyaux pyknotiques, protoplasme acidophile.

Les ganglions sont énormes formant une chaîne continue le long du mésentère. Leur structure apparaît bouleversée par la rupture des capillaires et la formation de véritables lacs sanguins. Au milieu des hématies, on trouve de nombreux macrophages, des polymorphes acidophiles et basophiles. Un des ganglions examinés présentait une zone de chromatolyse très étendue avec capillaires énormes à parois encore intactes, dans un magma acidophile chargé de débris de noyaux de toutes tailles. De gros macrophages se trouvaient à la périphérie.

5° Examen des autres organes : foie, poumon, rate, rein, surrénales. Il a été fait sur des animaux sacrifiés vingt-quatre heures, trois jours, neuf jours, treize jours et dix-huit jours après l'inoculation, ainsi que sur le porcelet mort le neuvième jour.

FOIE. — Quelle que soit la gravité de l'infection, le foie est toujours touché de bonne heure, ainsi que le prouvent la congestion des vaisseaux et l'infiltration leucocytaire. Les leucocytes, lymphocytes et acidophiles, à l'exclusion des polymorphes amphophiles, s'accumulent d'abord dans les espaces portes, puis envahissent quelques lobules dont les cellules subissent, en certains points, la dégénérescence granuleuse. Une prolifération active et des remaniements incessants réparent des lésions lorsque l'infection est légère. Mais lorsque la maladie se prolonge, l'afflux sanguin vient disloquer les travées hépatiques, les cellules comprimées se nécrosent et le lobule est détruit. De nombreux macrophages et polymorphes acidophiles président à son élimination. Nous n'avons pas observé de caryocinèse.

POUMONS. — Au début, on constate de la dilatation des capillaires et la

présence de nombreux lymphocytes dans les parois alvéolaires et le tissu conjonctif péribronchique. Dans les cas graves, on note de la thrombose veineuse, de l'engorgement de tous les vaisseaux qui finissent par se rompre, dilatent les parois des alvéoles et peuvent même combler leurs lumières. Acidophiles et macrophages sont toujours nombreux dans les travées conjonctives et dans les exsudats bronchiques. L'épithélium des petites bronches est fréquemment desquamé.

RATE. — Congestionnée au début, elle tend à se scléroser dans les cas prolongés. Hyperplasie folliculaire, comblement du sinus, dilatation des capillaires. Même dans les infections graves ou prolongées, la macrophagie n'est jamais très intense. Les acidophiles sont toujours nombreux, les hémorragies parfois très abondantes, les polymorphes amphophiles absents.

REIN. — A la congestion du début font suite rapidement des lésions épithéliales des tubes urinaires d'abord, des glomérules ensuite : destruction de la bordure en brosse et des bâtonnets, dégénérescence granuleuse des cellules ou cytolise. En même temps, le tissu conjonctif interstitiel réagit : des cellules conjonctives réactivées s'adaptent à la macrophagie et englobent les débris cellulaires. A côté d'elles apparaissent des lymphocytes, des acidophiles, des hématies extravasées. Les lésions, limitées dans les cas légers, s'étendent dans les infections graves, les hémorragies compriment les tubes qui dégèrent sans toutefois jamais présenter des cylindres, le syncytium des glomérules devient granuleux, ses noyaux entrent en pycnose, la capsule de Bowman s'épaissit, le glomérule se nécrose et disparaît. Pas de caryocinèse apparente.

CAPSULE SURRÉNALE. — Cette glande est peu modifiée dans les infections atténuées. Des hémorragies étendues peuvent, dans certains cas, bouleverser sa structure assez profondément et déterminer la nécrose de nombreux éléments cellulaires. La zone corticale est toujours moins touchée que la zone médullaire plus riche en vaisseaux et où l'infiltration lymphoïde est des plus intenses.

En résumé, l'ingestion du microbe provoque chez le porcelet des lésions qui peuvent être schématisées de la façon suivante : pénétration à travers la muqueuse intestinale (duodénum et intestin grêle), réaction lymphoïde de l'organe puis des ganglions voisins, septicémie et généralisation de l'infection déterminant de l'hépatie parenchymateuse, de la broncho-pneumonie lobulaire, de la néphrite épithéliale, splénite et surrénalite. Ces réactions des organes varient d'intensité suivant la gravité de l'infection.

D. — Maladie expérimentale du lapin.

Les animaux inoculés réagissent vivement, mais la symptomatologie n'a pas la netteté de la maladie du porcelet.

Dès que la fièvre apparaît, l'animal se met en boule, le poil

hérissé, il cesse de manger. Pas de diarrhée. Matières fécales normales, sèches et dures. Les troubles nerveux se résument à une asthénie sans caractères spéciaux.

L'inoculation sous-cutanée reproduit la lésion locale décrite chez le porcelet. Pas de réaction ganglionnaire. Pas de pus.

L'injection intraveineuse entraîne une élévation thermique qui atteint en quelques heures 41° à 42°. Puis une défervescence brusque se produit, suivie d'une nouvelle ascension qui se développe en plateau pendant quatre à cinq jours. La maladie se termine par la mort entre un et six jours, ou par la guérison accompagnée d'ondulations thermiques pendant plusieurs semaines. L'injection intraveineuse apporte des exemples de passage très rapide du germe infectieux dans l'urine moins de vingt-quatre heures après l'inoculation et de la persistance de ce mode d'élimination jusqu'à la mort au sixième jour.

L'ingestion à la sonde, dans l'estomac, de cultures pures à la dose de 2 cent. cubes peut entraîner la mort après passage du microbe dans la circulation générale et envahissement des viscères, en moins de dix heures. Ce mode d'inoculation peut donner naissance à une maladie mortelle en sept jours après une incubation de quatre à cinq jours et une maladie aiguë de quarante-huit heures avec hyperthermie atteignant 42°.

La maladie expérimentale du lapin suffirait donc à prouver le rôle pathogène du microbe et sa pénétration dans l'organisme par les voies digestives.

E. — Maladie expérimentale de la souris.

La souris blanche est très sensible à tous les modes d'inoculation.

Quelques instants après l'inoculation, la souris cesse de grimper sur les parois de sa cage. Elle se met en boule, triste, le poil hérissé. Puis elle se montre inquiète, agitée. Les mouvements ont perdu leur souplesse naturelle. Elle est secouée de courts frissons. Elle ne mange plus. Bientôt elle se traîne péniblement ou reste inerte. Elle succombe entre six et vingt-quatre heures.

L'injection sous-cutanée détermine une lésion locale de

même nature que la lésion du porcelet et du lapin. Pas de réaction ganglionnaire. Pas de formation de pus.

A l'autopsie, tous les organes sont congestionnés. Par frottis, on constate qu'ils contiennent, tous, le microbe inoculé.

La mort survient régulièrement par injection sous-cutanée en dix-huit heures avec des doses variant de 1/10 de cent. cube à 1/40 de cent. cube; de 1/50 à 1/100 de cent. cube, la mort ne se produit plus que sur 50 p. 100 des animaux infectés.

Par ingestion à la pipette, une goutte de culture pure entraîne la mort en vingt-quatre heures.

F. — Maladie expérimentale du cobaye.

Le cobaye est très résistant. Il succombe cependant irrégulièrement par ingestion de 1 cent. cube de culture pure à la sonde dans l'estomac après sept jours de fièvre légère. Le microbe ingéré est retrouvé par frottis dans le poumon, le foie, la rate, les reins, les capsules surrénales.

G. — La toxine : Expérimentation.

La toxine utilisée est une endotoxine préparée suivant le procédé indiqué plus haut (première partie, D).

PORCELET. — Quel que soit le mode d'inoculation employé, les symptômes qui se manifestent sont identiques à ceux de la maladie expérimentale : accidents aigus rapides, lésions chroniques poursuivant leur évolution pendant de longs mois. La marche de la température est particulièrement accusée.

I. — Ingestion à la sonde œsophagienne de 10 à 15 cent. cubes. La température normale du porcelet étant de 39°9, elle s'élève à 41°7 sept heures après l'inoculation; elle oscille entre 40°7 et 41°2 entre la 7^e et la 36^e heure, retombe à 40° vers la 48^e heure pour se fixer peu après à la normale.

Pendant toute la durée de la fièvre : frissons, malaise, inappétence, asthénie, phénomènes cessant après la chute de la température.

II. — Injection sous-cutanée de 5 cent. cubes. La température de 39°5 passe six à sept heures après l'inoculation à 41°, reste vingt-quatre heures à ce niveau et retombe à la 48^e heure à la normale. Accidents aigus, frissons, malaise, inappétence, fatigue générale cessant après la chute de la température.

III. — Injection intracérébrale, sous-méningée, après trépanation de 1 cent. cube environ de toxine.

La température, avant l'inoculation, étant de 39° à 39°5, atteint trois heures après 41°, 7 heures après 42°, oscille entre 41° et 42° jusqu'à la 36^e heure environ, puis tombe en quelques heures entre 40° et 39°5.

Accidents aigus de la plus haute gravité reproduisant la symptomatologie générale de la maladie. Après vingt-quatre heures, l'attitude caractéristique (rein voussé, jarret clos, position du rassemble, écartement des onglons) est constituée. Trois terminaisons de la crise ont été observées : 1° mort quatre-vingt-seize heures après l'inoculation, soit à la fin du quatrième jour ; 2° guérison avec persistance de séquelles s'aggravant progressivement, reproduisant les formes les plus accentuées d'atrophie et de dégénérescence musculaire, et mort après trois mois, au dernier degré de la cachexie ; 3° guérison complète après quelques jours de maladie.

H. — Physiologie pathologique.

L'étude de la maladie expérimentale du porcelet permet de concevoir les conditions de l'infection.

1° CONDITIONS DANS LESQUELLES LE MICROBE APPARAÎT DANS LES ORGANISMES INFECTÉS. — Dans la maladie expérimentale du porcelet, le microbe peut être isolé de la circulation générale. Très souvent l'hémoculture donne un résultat négatif. Si, au moment de sacrifier l'animal, on fait une nouvelle hémoculture par ponction du cœur, elle peut rester négative alors que, dix minutes après ce prélèvement du sang dans la circulation générale, les frottis des principaux organes : poumons, foie, rate, reins, capsules surrénales, montrent que le microbe est présent dans le parenchyme des viscères.

L'examen direct par étalement ou par gouttes épaisses sur lames, même après centrifugation, a toujours été négatif.

Il disparaît ou se raréfie très rapidement dans la circulation générale. Dans les organes, par frottis, on le trouve à partir de la quatrième heure jusqu'à la fin de la maladie qui survient de un à quinze jours après l'inoculation ou l'ingestion. Il semble donc que, très raréfié ou disparu de la circulation générale, il se multiplie dans les capillaires profonds des organes.

Le microbe occupe, dans l'intestin, la sous-muqueuse et les interstices des glandes ; dans les ganglions, les sinus, surtout au voisinage de la capsule ; dans le foie, en petit nombre, le sang extravasé au niveau des lobules en voie de destruction ;

dans le rein, le tissu interstitiel, soit intertubulaire, soit au voisinage immédiat du glomérule; dans le poumon, les exsudats bronchiques, les parois et la lumière des alvéoles. La rate et les capsules surrénales sont très pauvres en bacilles.

L'examen des frottis et des coupes montre dans tous les cas que le germe infectieux a une vie extracellulaire, libre, en dehors des leucocytes et des cellules, soit isolé, soit par petits groupes.

Il est mobile dans les suc organiques où il ne forme jamais de spores. Il se multiplie par scissiparité. Dans certains cas, on le retrouve dans les organes et plus particulièrement dans la rate aux divers stades de la bactériolyse, à côté des formes en voie de reproduction.

2° VOIES DE PÉNÉTRATION DANS L'ORGANISME. — Le fait que les premières observations de la maladie ont retenu l'attention, au mois de juin, d'une année de sécheresse, au moment de la pullulation des moustiques et de la réinfection paludéenne, a orienté les premières recherches dans le sens de la transmission de la maladie par les insectes piqueurs. Les résultats ont été négatifs.

L'expérimentation sur le porcelet permet d'apporter la preuve que l'infection se fait par la pénétration à travers la muqueuse de l'intestin, après ingestion par la voie buccale.

Si on fait effectuer par une série de porcelets de 4 kilogr. un repas infectant et que ces animaux soient sacrifiés à des intervalles déterminés, on constate ce qui suit : après quatre heures, les frottis d'organes montrent que le microbe ingéré a pénétré dans la circulation générale et dans les viscères. Dans l'estomac, qui n'a pas encore chassé le bol alimentaire entièrement, le microbe est en parfait état de conservation et en voie de multiplication. Dans le duodénum, il donne l'impression d'une culture à peu près pure. Le jéjunum et l'iléon ne contiennent pas de microbes décelables par frottis. Après vingt-quatre heures très peu de microbes dans l'estomac, un très grand nombre dans le duodénum, une assez grande quantité dans le jéjunum, très peu dans le gros intestin.

Au point de vue anatomo-pathologique, on constate une duodéno-entérite caractérisée par l'épaississement de la mu-

queuse infiltrée d'éléments lymphoïdes, l'hypertrophie des follicules, les solutions de continuité de l'épithélium, de nombreux points ulcérés et nécrosés. Les ganglions mésentériques sont énormes, formant une chaîne continue le long du mésentère. Leur structure apparaît bouleversée par la rupture des capillaires et la formation de véritables lacs sanguins.

Par frottis on a retrouvé le germe infectieux dans les principaux viscères. On constate sur les coupes de l'hépatite parenchymateuse, de la broncho-pneumonie lobulaire, de la néphrite épithéliale, de la splénite et de la surrénalite.

Les diverses étapes de la pénétration du microbe pathogène dans l'organisme par la voie digestive sont nettement marquées. Il semblerait que dans la maladie expérimentale, la moindre résistance du sujet à l'infection est causée par l'ingestion de doses élevées du germe infectieux, l'absorption consécutive de toxine, la dépression nerveuse et l'inhibition de la fonction hépatique.

3° ELIMINATION DU MICROBE DE L'ORGANISME. — Le microbe est éliminé de l'organisme par les reins, les poumons et le tube digestif.

On le retrouve fréquemment dans les urines prélevées aseptiquement au cours de la maladie. L'urine n'est jamais sanglante ni hémoglobinurique. Elle contient une petite quantité d'albumine et un taux très faible de chlorures. Les lésions épithéliales et interstitielles du rein, avec points hémorragiques et nécrose du glomérule, suffisent à expliquer le passage en grande abondance des microbes en plein développement et doués de toute leur mobilité.

Le microbe peut être isolé par frottis de gorge. On objectera, dans ce cas, qu'il provient de souillures extérieures. Mais les lésions pulmonaires sont constantes : suffusions sanguines à l'œil nu, correspondant à la rupture des capillaires dans les alvéoles.

Le parasite est fréquent dans les selles de l'homme et des animaux sains. Cette constatation n'a rien de surprenant, puisqu'il se trouve en abondance dans le riz. Après l'ingestion des repas infectants on suit la culture et l'élimination du germe infectieux dans les voies digestives.

4° MODE D'ACTION. — Dans les cas d'injection sous-cutanée à doses faibles du sang des malades, d'ingestion buccale et stomacale, la maladie se déclare au quatrième ou au cinquième jour après l'introduction du germe infectieux dans l'organisme. Cette période de quatre à cinq jours correspond à l'incubation de la maladie expérimentale du porcelet.

Le germe infectieux séjourne dans les capillaires profondes des viscères. Cette infection est fort réduite si on la compare à la pullulation des microbes doués d'une grande virulence.

Dans l'infection par voie péritonéale, les doses massives de microbes sont rapidement détruites dans l'épanchement péritonéal qui succède à l'injection, les symptômes les plus graves apparaissent très rapidement. L'autopsie, pratiquée aussitôt, montre très peu ou pas du tout de germes infectieux dans les viscères.

De même l'inoculation intracérébrale de toxine pure réalise d'emblée la symptomatologie la plus grave.

En somme, la maladie expérimentale du porcelet est une toxi-infection dans laquelle les phénomènes toxiques sont dominants. La toxine mise en liberté provient des germes circulant dans le sang et des bacilles qui cultivent abondamment dans le tube digestif.

Ce sont les symptômes nerveux, la myalgie, l'asthénie profonde, l'inquiétude, l'hypotonicité musculaire, qui donnent à la maladie sa physionomie propre. Chez le porcelet, cette hypotonicité musculaire, transitoire dans les cas bénins, aboutit à l'atrophie musculaire et à l'infiltration aqueuse par dégénérescence de la fibre musculaire dans les cas graves.

La démonstration est faite par l'étude de la physiologie pathologique de la maladie expérimentale du porcelet que *le microbe, isolé du sang de l'homme dans des états pathologiques déterminés, manifeste un pouvoir toxigène accentué et une virulence faible dans la circulation générale des organismes atteints. Il produit une maladie toxi-infectieuse transmissible par les aliments et à point de départ gastro-intestinal.*

CONCLUSION

L'étude qui précède établit un certain nombre de faits d'observation et suggère quelques hypothèses.

Un microbe, *Bacillus asthenogenes*, est isolé du sang de l'homme au cours de fièvres indéterminées de Cochinchine; il permet d'établir la symptomatologie de ces états fébriles. Ce germe est retrouvé à l'autopsie, dans les viscères et dans l'urine de deux sujets décédés, après avoir été isolé par hémoculture au cours de la maladie. La réaction de fixation du complément est positive dans les cas graves de l'affection.

Ce bacille donne au porcelet une maladie expérimentale, qui, dans ses formes bénignes et moyennes, reproduit les symptômes principaux de la maladie humaine. La maladie expérimentale permet d'établir le mode de pénétration du germe infectieux par la voie digestive, sa répartition tissulaire, ses voies d'élimination et son mode d'action. Il tue en outre la souris et le lapin.

On peut donc conclure nettement que ce microbe est pathogène.

Est-il l'agent de la maladie de l'homme correspondant à la symptomatologie décrite? Est-il seulement un microbe associé ou un microbe de sortie sous la dépendance d'un autre germe, véritablement spécifique? Bien que l'ensemble des faits acquis soit favorable à sa spécificité, la question reste ouverte à de nouvelles recherches.

La maladie décrite rentre-t-elle dans le cadre des maladies climatiques connues, est-elle une entité morbide méconnue? Le caractère arbitraire des distinctions entre les fièvres climatiques du pays subordonne la conclusion à une observation plus prolongée. C'est ce qui justifie l'appellation provisoire de « fièvre asthéo-myalgique » proposée pour cette affection.

La maladie expérimentale du porcelet comporte, outre les formes bénignes et moyennes, des formes graves suivies de guérison avec séquelles d'atrophies musculaires incurables et progressives. Ces formes graves existent-elles chez l'homme? L'observation, dans quelques cas, de troubles passagers de la

motricité, consécutifs à la fièvre asthéo-myalgique, permet de supposer que des séquelles plus sévères peuvent se présenter. Si cette hypothèse est fondée, il est vraisemblable qu'elles ne sont pas rattachées à une maladie fébrile initiale passée inaperçue. Il se peut qu'elles viennent grossir le groupe si confus des troubles chroniques de la motricité que la terminologie médicale englobe sous le nom de béribéri. En tout cas, la question des formes graves de la maladie humaine mérite d'être posée.

L'examen de ces suggestions rentre dans le programme des recherches en cours.

Travail de l'Institut Pasteur de Saïgon.)

SUR LES MYXOBACTÉRIES

par P. E. PINOY.

(Avec la planche IV.)

Depuis que Thaxter, en 1892, a mis nettement en évidence le groupe des Myxobactéries, plusieurs travaux ont été publiés mettant en doute leur existence, mais Thaxter n'eut pas de

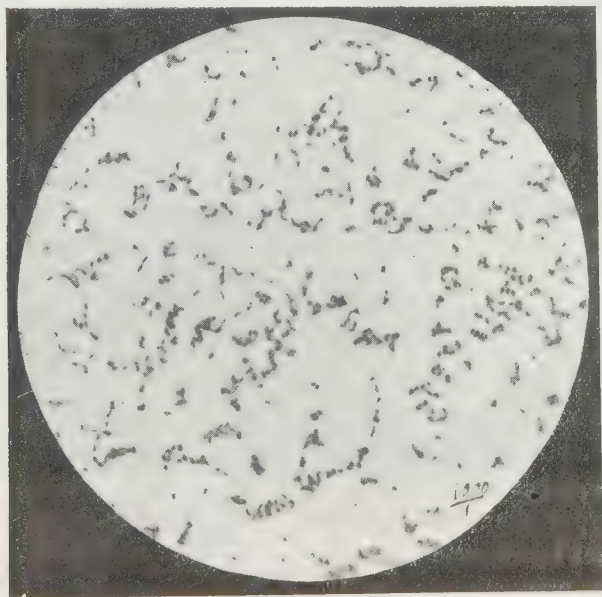


FIG. 1. — Culture de *Micrococcus luteus*.

peine à démontrer que les auteurs n'avaient jamais eu en mains de véritables Myxobactéries et qu'ils avaient pris pour telles des associations de champignons et de bactéries. En particulier, Zederbauer avait considéré comme *Chondromyces glomeratus* l'état conidien du *Coryne sarcoides* Tul, décrit par Fries sous le nom de *Tremella sarcoides* et bien connu des mycologistes.

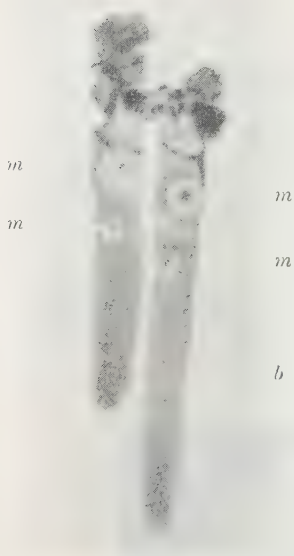


FIG. 2. — Taches claires (m), formées par la Myxobactérie sur la strie (b) bactérienne.

développement complet est qu'il soit associé à une bactérie particulière. — Cette bactérie (fig. 1) est un *Micrococcus* voisin de *Micrococcus luteus*. Ses caractères sont les suivants : formes coccus souvent réunies par deux ou formes bacillaires très courtes, immobiles ou mouvements browniens ; prend le Gram, ne liquéfie pas la gélatine, trouble le bouillon et donne ensuite un voile à sa surface, donne sur pomme de terre un enduit jaune citron et sur gélose une strie blanc jaunâtre.

En association avec cette

Vahle, au contraire, a donné une bonne étude de quelques Myxobactéries. Une observation faite par lui sur *Chondromyces crocatus*, espèce d'un genre très évolué de Myxobactéries, m'a engagé à reprendre l'étude biologique de cette espèce. En effet cet auteur constate qu'en culture pure (?) *Chondromyces crocatus* ne se développe que faiblement, tandis qu'on obtient un grand développement sur les milieux non stérilisés par chauffage. « En ensemençant en même temps *Bacillus oxalaticus* sur milieu stérilisé, on obtient un développement végétatif plus marqué, mais les fructifications produites sont anormales. »

En employant la même technique qui m'avait servi pour l'étude des Acrasiées, j'ai obtenu des cultures de cet organisme et j'ai constaté que la condition *sine qua non* pour obtenir son

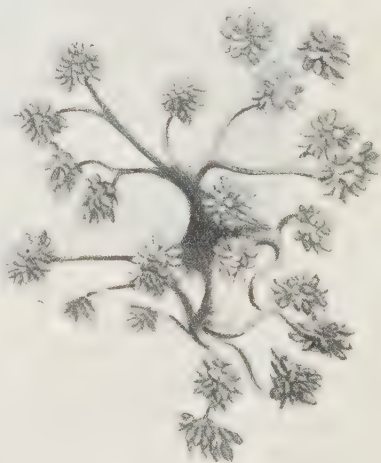


FIG. 3. — Fructification (faible grossissement : 60/1).

bactérie, *C. crocatus* se développe non seulement sur son substratum naturel, le fumier, mais aussi sur gélose au lait, sur gélose à la graine de lin, milieux stérilisés à 115° et préparés suivant la technique que j'ai indiquée dans mon travail sur les Myxomycètes.

Si, sur la surface de la gélose (gélose à la graine de lin par

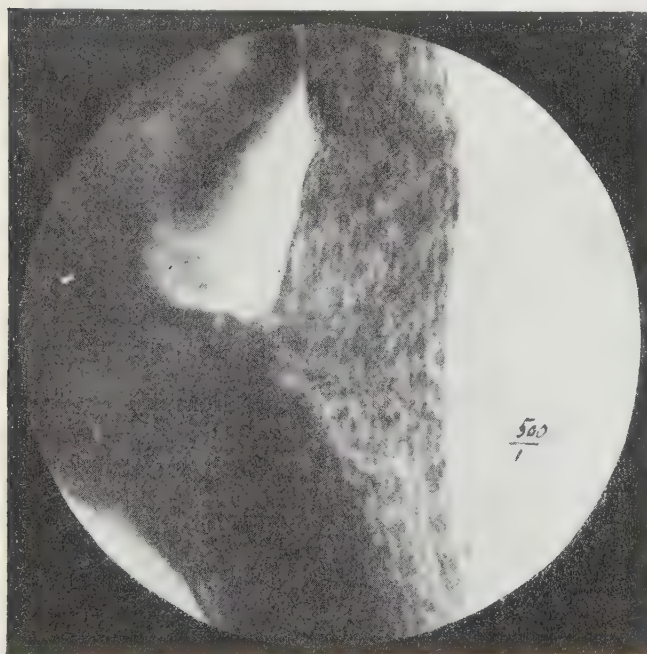


FIG. 4. — Formation du pied d'une fructification.

exemple), contenue dans une grande boîte triangulaire, on ensemente par stries simultanément les kystes de la Myxobactérie et le *Micrococcus*, on constate que la bactérie se développe d'abord en donnant des trainées opaques jaune blanchâtre, puis au milieu de ces trainées apparaissent, au bout de trois à quatre jours, des taches claires, transparentes, circulaires à bord surélevé qui envahissent progressivement la culture de *Micrococcus* (fig. 2). Les taches claires sont formées par la Myxobactérie qui a solubilisé les *Micrococcus* dans les points où elle s'est développée. Le bord de la tache est surélevé par suite

de l'amoucellement des éléments végétatifs de la Myxobactérie.

Ceux-ci sont représentés par des bâtonnets à bouts arrondis de $3\ \mu$ à $8\ \mu$ de long sur $0\ \mu\ 6$ à $0\ \mu\ 8$ de large. Ils ne prennent pas le Gram et se colorent bien par tous les colorants basiques. Avec les colorants à la thionine, à l'hématoxyline, on voit au centre un ou deux corpuscules fortement colorés, situés entre

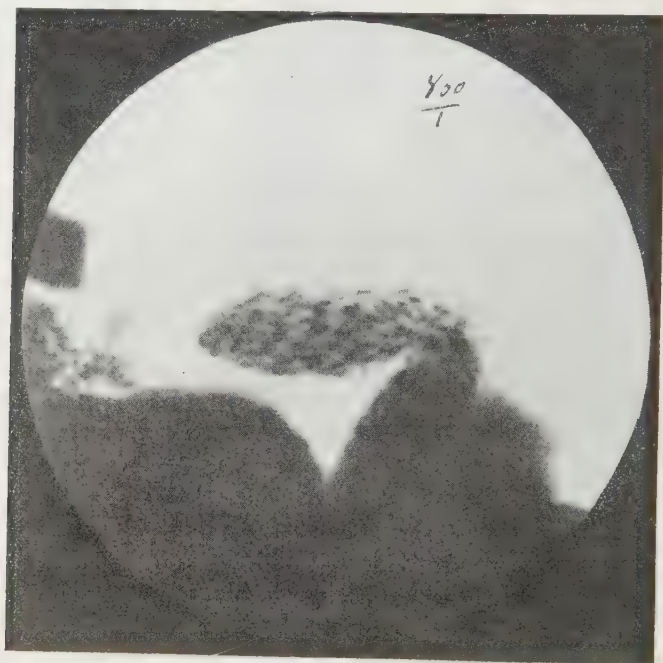


FIG. 5. — Formation du kyste.

deux espaces clairs. Examinés dans une gouttelette d'eau, en goutte pendante, à l'état vivant, ces éléments paraissent animés d'un mouvement oscillatoire. Leur mouvement de progression est dû vraisemblablement à leur adhérence sur le substratum, il s'agirait d'une reptation. Ils se groupent en lignes, sécrètent autour d'eux une substance unissante particulière et forment des filaments plus ou moins épais. Certains de ces filaments peuvent pénétrer dans la gélose et s'étendre au delà des traînées de la culture du *Micrococcus*. Au bout d'un temps variable, dépendant des conditions extérieures, température, humidité,

généralement au bout de huit à quinze jours, les appareils de fructification se forment soit sur le bord, soit au centre des taches. Ils sont d'ordinaire plus nombreux sur les bords. Les fructifications sont d'un jaune orangé vif (fig. 3). La plus simple est constituée par le groupement des filaments végétatifs en

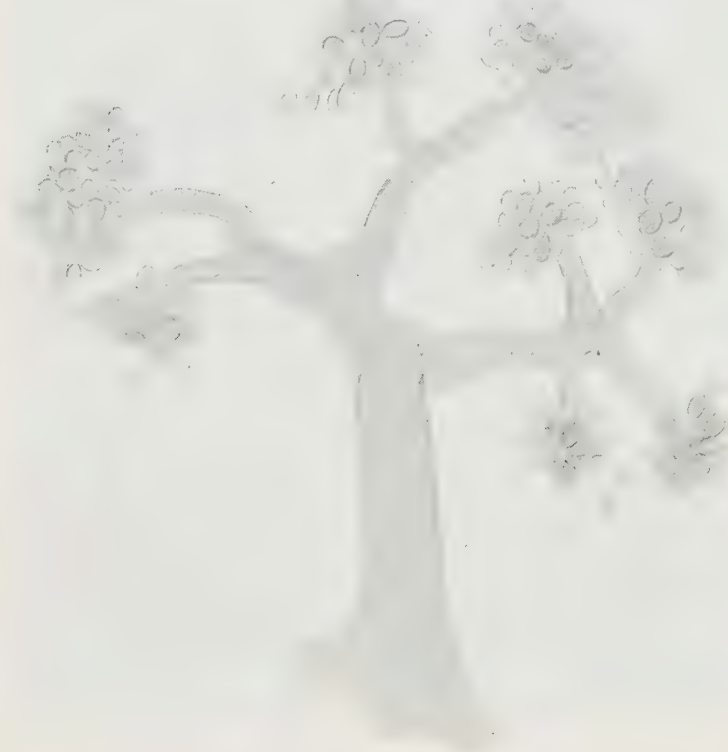


FIG. 6. — Fructification montrant la disposition des kystes
(grossissement : 180/1).

un amas qui se différencie en un pied et une tête arrondie. La substance unissante jaune enrobant les filaments qui forment le pied (fig. 4) se durcit en même temps que de la tête sortent dans toutes les directions des filaments de bactéries alignées qui s'entourent bientôt de la même substance, de manière à constituer des kystes de forme parfaitement définie (fig. 5). Les kystes sont ovoïdes. Une extrémité est arrondie et l'autre est terminée par une pointe courte qui les fixe sur la tête. Ils sont

rangés autour de la tête comme les stérigma's chez les *Aspergillus* (fig. 6). Les fructifications sont le plus souvent composées. Le pied s'est ramifié au point de donner un arbuscule dont chaque branche porte à son extrémité un groupe de kystes.

De manière à pouvoir étudier les formes bactériennes du *Chondromyces crocatus*, sans risquer d'attribuer à cette espèce des formes appartenant à une bactérie étrangère, j'ai cherché



FIG. 7. — Eléments végétatifs de la Myxobactérie.

à l'obtenir en culture pure. J'ai obtenu ce résultat en cultivant le *Micrococcus luteus* sur de la gélose à la graine de lin, faisant un extrait chloroformique de la culture ainsi obtenue et l'ajoutant au milieu sur lequel j'ensemenciais les kystes de *Chondromyces*. Dans ces conditions, j'ai constaté parmi les formes végétatives de la Myxobactérie l'existence d'un grand nombre de formes en y, semblables à celles des bactéroïdes des nodosités des Légumineuses (fig. 7).

Ce n'est pas là d'ailleurs le seul point de similitude entre les Myxobactéries et les bactéries des Légumineuses. Les bactéroïdes donnent en effet, à l'intérieur des nodosités, des fila-

ments formés par des bactéries enrobées dans une substance unissante qui a les mêmes propriétés chimiques que celle du *Chondromyces crocatus*. Elle résiste à la potasse et se colore en jaune par l'iode. Les suçoirs qui pénètrent dans l'intérieur des cellules, et qui ont été représentés par plusieurs auteurs, res-

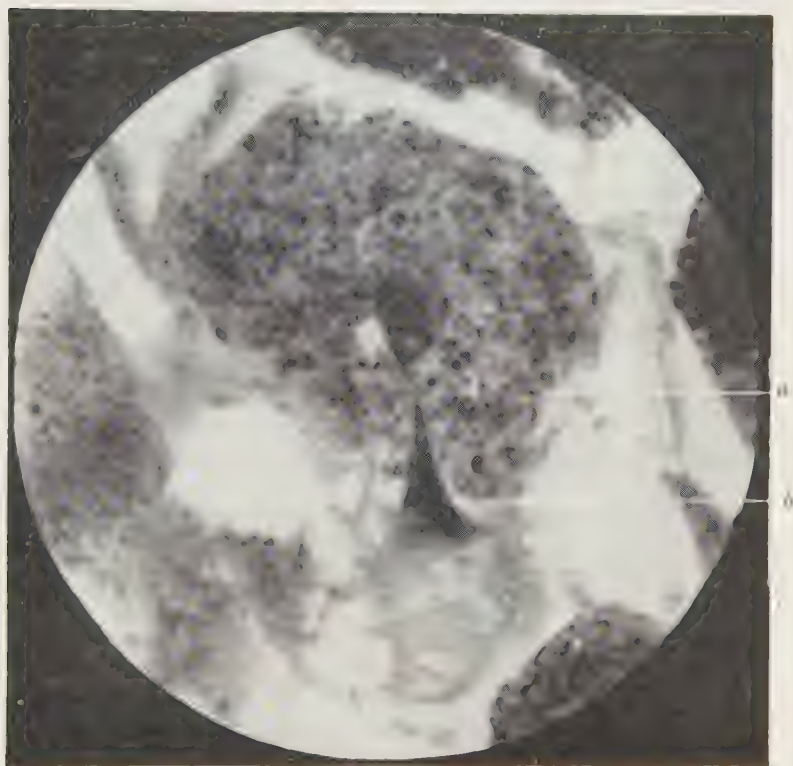


FIG. 8. — Photographie d'une cellule (a) de nodosité de pois pénétrée par les bactéroïdes (b).

semblent beaucoup aux kystes myxobactériens. La photographie d'une coupe de nodosité de pois montre la disposition des bactéroïdes pénétrant dans une cellule (fig. 8).

Au cours de nos cultures, nous avons obtenu, par suite de l'addition de bactéries étrangères (*B. fluorescens*, *B. pyocyaneus*) des formes anormales. La plus intéressante est celle qui a été représentée (fig. 9). Les kystes se sont produits successivement aux dépens de filaments provenant du pied, ils se sont disposés

en chapelets. Cette forme se rapproche beaucoup du *Chondromyces catenulatus* Thaxter. La perte des cultures pendant la guerre m'a empêché de savoir si cette forme pouvait être fixée. Ce point particulier eût été important à étudier, nous aurions eu l'exemple d'une mutation dont nous connaissions la cause.

Les Myxobactéries existent souvent dans les matières fécales,



FIG. 9. — Fructification anormale.

et Chatton a obtenu, à partir des excréments de singe, une culture de Myxobactérie qu'il m'a apportée. Il s'agissait du *Myxococcus ruber*. Je l'ai conservé longtemps en culture avec une bactérie fluorescente. Les *Myxococcus* sont des Myxobactéries très simples. Dans ce genre l'amas qui constitue la fructification se subdivise en masses plus ou moins sphériques. A l'intérieur de ces masses, qui équivalent aux kystes de *Chondromyces crocatus*, chaque bactérie se transforme en une spore. Cette formation est analogue à celle des Guttulinacées chez qui les amibes rassemblées en amas se transforment chacune en spores.

C'est pourquoi Vahle voudrait placer les Myxobactéries dans le groupe des Myxomycètes. Il est certain que pour former les fructifications les Myxobactéries se disposent en trainées et se groupent comme les myxamibes des Acrasiées. Ce n'est pas parce qu'une colonie d'algues prend le même aspect qu'une colonie de protozoaires, que l'on doit conclure qu'une algue est un protozoaire.

Les Myxobactéries sont des bactéries qui donnent des colonies très différenciées. Cette différenciation est due sans doute à leur vie symbiotique avec une autre espèce bactérienne. Les kystes des Myxobactéries sont comparables aux amas des staphylocoques dans la Botryomycose. Enfin la Bactérie qui provoque la formation des nodosités des racines des Légumineuses est une Myxobactérie. Le terme le plus juste pour désigner les Myxobactéries serait celui de Synbactéries.

BIBLIOGRAPHIE

THAXTER. — On the Myxobacteriaceæ, a new order of Schizomycetes. *Bot. gaz.*, p. 389, 1892.

— Further observations on the Myxobacteriaceæ, *Bot. gaz.*, p. 395, 1897.

— Notes on the Myxobacteriaceæ, *Bot. gaz.*, p. 405, 1904.

C. VAHLE. — Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakterien und Bakteriazeeen, sowie die Rhodobakteriazeeen und Spirillazeeen. *Centralbl.* 2^e partie, 25, p. 178, 1910.

Le Gérant : G. MASSON.





Imp. L. Lafontaine.

Constantin del. lith.

